FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1909 — THÈSE — N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Jeudi 11 Février 1909, à 1 heure

PAR

Le Dr **J. MILHIT**

Interne des Hôpitaux de Paris
Lauréat de l'Académie de Médecine
Médaille des Epidémies
Préparateur à la Faculté de Médecine (laboratoire d'Hygiène).

LES OPSONINES

Étude physico-chimique et biologique

LES OPSONINES DANS LA FIÈVRE TYPHOIDE

Sérothérapie, antityphique et opsonines

Méthode opsonique : VALEUR ET APPLICATIONS

Président : M. CHANTEMESSE, *professeur*

Juges { MM. GILBERT, *professeur*
FERNAND BEZANÇON, *agrégé*
CARNOT, *agrégé*

Le candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical

PARIS
LIBRAIRIE MÉDICALE ET SCIENTIFIQUE
JULES ROUSSET
1, Rue Casimir-Delavigne, 1

Faculté de Médecine de Paris

LE DOYEN	M. LANDOUZY
PROFESSEURS	MM.
Anatomie	NICOLAS
Physiologie	Ch. RICHET
Physique médicale	GARIEL
Chimie organique et Chimie générale	GAUTIER
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BLANCHARD
Pathologie et Thérapeutique générales	BOUCHARD
Pathologie médicale	BRISSAUD, DEJERINE
Pathologie chirurgicale	LANNELONGUE
Anatomie pathologique	Pierre MARIE
Histologie	PRENANT
Opérations et appareils	HARTMANN
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET
Thérapeutique	GILBERT
Hygiène	CHANTEMESSE
Médecine légale	THOINOT
Histoire de la médecine et de la chirurgie	N...
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER
Clinique médicale	HAYEM, DIEULAFOY, DEBOVE, LANDOUZY
Maladies des enfants	HUTINEL
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	Gilbert BALLET
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAUCHER
Clinique des maladies du système nerveux	RAYMOND
Clinique chirurgicale	DELBET, QUENU, RECLUS, SEGOND
Clinique ophtalmologique	DE LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires	ALBARRAN
Clinique d'accouchements	PINARD, BAR, RIBEMONT-DESSAIGNES
Clinique gynécologique	POZZI
Clinique chirurgicale infantile	KIRMISSON
Clinique thérapeutique	Albert ROBIN

Agrégés en exercice

MM.

AUVRAY	CUNEO	LAUNOIS	NOBECOURT
BALTHAZARD	DEMELIN	LECENE	OMBREDANNE
BRANCA	DESGREZ	LEGRY	POTOCKI
BEZANÇON (F.)	DUVAL (P.)	LENORMANT	PROUST
BRINDEAU	GOSSET	LOEPER	RENON
BROCA (A.)	GOUGET	MACAIGNE	RICHAUD
BRUMPT	JEANNIN	MAILLARD	RIEFFEL
CARNOT	JEANSELME	MARION	SICARD
CASTAIGNE	JOUSSET (A.)	MORESTIN	ZIMMERN
CLAUDE	LABBE (M.)	MULON	
COUVELAIRE	LANGLOIS	NICLOUX	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

MES PREMIERS MAITRES

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur CHANTEMESSE

Professeur d'hygiène à la Faculté de Médecine
Inspecteur général des services d'hygiène
Membre de l'Académie de Médecine
Officier de la Légion d'honneur

qui fut pour nous, pendant toute la durée de nos études médicales, à la fois le *Maître* sans cesse disposé à encourager et à guider nos efforts et surtout le protecteur bienveillant toujours prêt à rendre un service, discrètement, sans phrases. Nous ne saurions trop lui exprimer notre reconnaissance, surtout à cette heure où, nous nommant son préparateur à la Faculté, il vient de nous donner une nouvelle preuve d'estime et de confiance.

A Monsieur le Professeur HUTINEL

Professeur de clinique infantile à l'hôpital
des Enfants-Malades
Membre de l'Académie de Médecine
Chevalier de la Légion d'honneur

Hommage de profonde reconnaissance.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

M. le Professeur TILLAUX (*In memoriam*), Charité, **1901**.

M. P. MERKLEN (*In memoriam*), Laënnec, **1901-1902**.

M. le Professeur LANNELONGUE et M. le Dr VILLEMIN, Hôpital des Enfants-Malades, Externat **1902-1903**.

M. le Professeur CHANTEMESSE, Hôpital du Bastion 29, Externat **1903-1904**.

M. le Docteur APERT, Hôpital Tenon, Internat provisoire **1904-1905**.

M. le Docteur CAUSSADE, Hôpital Tenon, Internat **1905-1906**.

M. le Docteur A. PETIT, Hôtel-Dieu, Internat **1906-1907**.

M. le Professeur CHANTEMESSE, Bastion 29, Internat **1907-1908**.

M. le Docteur MILIAN, Bastion 29, Internat **1907-1908**.

M. le Docteur BALZER, Hôpital Saint-Louis, Internat **1908-1909**.

M. le Professeur HUTINEL, Hôpital des Enfants-Malades, Internat **1908-1909**.

M. le Professeur Agrégé NOBÉCOURT, Hôpital des Enfants-Malades, Internat **1908-1909**.

A MES AUTRES MAITRES DANS LES HOPITAUX ET LES LABORATOIRES

M. le Docteur BOISSARD, stage d'accouchement **1905**.

M. le Docteur LOUIS-MARTIN, Hôpital Pasteur.

MM. ROUX, V. HENRI (Sorbonne), AUG. PETTIT (Muséum). DOMINICI, LEVADITI, BABONNEIX.

153

LES OPSONINES

Etude physico-chimique et biologique

INTRODUCTION

Les opsonines et la conception de l'immunité Définitions

Pour pouvoir aborder avec fruit l'étude des substances contenues dans le *sérum* que l'on décrit sous le nom d'*opsonines*, il est indispensable de rappeler auparavant en quelques mots, l'état actuel de nos connaissances, sur les acquisitions les plus récentes de la biologie en ce qui concerne la succession des faits qui permettent d'arriver à une conception claire de l'immunité.

A chaque instant nous parlerons d'*alexine*, de *sensibilisatrice*, de *pouvoir bactéricide*, etc., aussi nous paraît-il nécessaire de commencer cette étude par une définition aussi exacte que possible de chacun de ces termes : nous comprendrons mieux ainsi et la conception actuelle des moyens employés par l'organisme pour parvenir à l'*immunité* et le rôle que les *opsonines* viennent y jouer.

Comment peut-on se représenter à l'heure actuelle, d'une manière simple, le mécanisme de l'immunité dans les maladies infectieuses ? Telle est la question à laquelle nous allons essayer de répondre.

Au fur et à mesure que progressaient nos connaissances bactériologiques, biologiques, etc., une double notion se faisait jour

dont l'ampleur est allée en croissant et que l'on peut énoncer sous la forme des deux propositions suivantes :

I. — Multiples sont les moyens d'attaque employés par les microbes pathogènes pour faire éclore et propager dans notre organisme les maladies infectieuses.

II. — Non moins variés sont les moyens de défense dont dispose notre organisme contre ces divers moyens d'attaque.

Les microbes sont nocifs non seulement directement par eux-mêmes, mais aussi par les poisons qu'ils recèlent (*endotoxines*) ou par ceux qu'ils excrètent au dehors (*toxines*, *agressines*, *antiphagines*, etc.).

A ces moyens d'attaque notre organisme oppose des moyens de défense corrélatifs appropriés.

Tout d'abord il dispose de défenseurs naturels, les globules blancs, *leucocytes polynucléaires*, dont le rôle est d'englober les microbes et de les détruire en les digérant (*phagocytose*).

D'autre part la présence de bactéries pathogènes dans notre organisme provoque *in situ* l'apparition de substances aptes les unes (*substances bactéricides*, *bactériolysines*) à faire périr, à désagréger, à dissoudre les bactéries ; d'autres (*agglutinines*), à les agglutiner en grumeaux ; d'autres (*antitoxines*) à jouer le rôle d'*antidote* des poisons bactériens.

Contre l'*intoxication* microbienne, l'organisme lutte d'une part au moyen de la *phagocytose*, et d'autre part à l'aide de substances *bactéricides*, désignées sous les noms de *complément*, *alexine*, *cytase*. Mais ce schéma est incomplet.

En cas d'infection par un microbe un peu *virulent*, l'organisme pour parvenir à l'immunité doit mettre en jeu d'autres éléments de défense, jouant en quelque sorte un rôle INTERMÉDIAIRE entre les phagocytes et les substances bactéricides d'une part, et les bactéries pathogènes d'autre part.

C'est dire que le problème doit être envisagé sous deux aspects, d'une part l'état de défense naturelle d'un individu normal *sain*, d'autre part l'état de défense d'un individu *immunisé* : *immunité naturelle*, *immunité acquise*.

L'individu et l'animal sains ont un sérum doué de propriétés défensives particulières, dont le mécanisme d'action a été différemment interprété, auxquelles on a donné des noms différents,

suivant la conception que l'auteur se faisait précisément de ce mode d'action intime mais qui représentent au fond le même principe.

Pour Büchner (*théorie humorale*) ces substances sont des *alexines*. Pour Ehrlich, Morgenroth, ces substances constituent le *complément*. Metchnikoff leur donne le nom de *cytases* (*théorie phagocytaire*), *alexine*, *complément*, *cytase*, sont donc trois termes synonymes désignant certaines substances IDENTIQUES contenues dans le sérum d'individus normaux.

Le caractère commun de ces substances est d'exister dans le sérum des animaux neufs (elles existent d'ailleurs également dans le sérum des animaux immunisés), d'être *détruites* en totalité par un chauffage de 15 minutes à 55 degrés, de ne pas être *spécifiques*.

Supposons maintenant que nous voulions immuniser un animal contre le bacille typhique par exemple. Pour y arriver nous lui injecterons soit des cultures tuées par la chaleur, soit des macérations de bacilles, soit des produits de leur sécrétion, c'est-à-dire des *vaccins*, désignés habituellement sous le nom d'*antigènes*, suivant la terminologie de Deutsch.

L'injection de ces antigènes va lui conférer une immunité active contre le bacille typhique, et déterminer l'apparition de substances *spécifiques* dans son sérum. Ces substances spécifiques fabriquées par l'organisme sous l'influence des antigènes sont dénommées *anticorps* (Pfeiffer.)

Les recherches de Bordet, Ehrlich, Morgenroth ont montré que tout sérum riche en anticorps est constitué par deux substances, qui s'aident mutuellement dans leurs effets, l'*alexine* ou complément que nous connaissons déjà, et une nouvelle substance appelée par Bordet la *sensibilisatrice*, l'*ambocepteur* par Ehrlich, *fixateur* par Metchnikoff ; *sensibilisatrice*, *ambocepteur*, *fixateur*, trois termes synonymes, répondant seulement dans leur terminologie à une conception spéciale du mécanisme intime de l'immunité.

La propriété essentielle de ces substances est d'appartenir en propre au sérum des organismes immunisés, d'être étroitement *spécifiques*, de résister au chauffage à 60 degrés et d'agir même à des doses très minimes ; cette action consistant en une

sorte de « *mordançage* » des bacilles qui facilite leur destruction : nous ne voulons pas pour l'instant pénétrer la nature intime du phénomène reliant l'action de l'alexine et de la sensibilisatrice, ce qui nous entraînerait à parler des belles expériences sur la fixation ou la *déviation du complément* de Bordet et Gengou, mais simplement bien définir la valeur de tous ces mots dont nous aurons à faire un usage constant.

En dehors de l'alexine et de la sensibilisatrice que nous connaissons maintenant, et indépendantes d'elles, il existe dans le sérum des individus immunisés, d'autres substances, *agglutinines*, *précipitines*, etc. qui jouent aussi un rôle actif dans l'effort de l'organisme tendant à l'immunité.

Si nous voulions pénétrer plus avant encore dans l'étude du mécanisme intime de ces phénomènes, il nous faudrait signaler dans le sérum, à côté de ces alexines, agglutinines bactériennes, la présence d'alexines, d'agglutinines globulaires ; il faudrait parler également d'autres substances de même nature à peu près, résultant de la réaction défensive même de l'organisme, telles que *anticytotoxine*, *antihémolysine*, *antisensibilisatrice*, etc.

Contentons-nous pour l'instant de retenir la présence dans le sérum d'un organisme immunisé, d'*alexine* et de *sensibilisatrice* (ou de complément et d'ambocepteur, ou de cytase et de fixateur).

Ces deux substances existent côte à côte dans le même sérum, combinant leur action en vue du même but, puissantes quand elles sont unies, impuissantes quand elles sont isolées, constatation qui est le fond même des expériences sur la déviation du complément, sur la réaction de fixation.

En quelques mots, rappelons à nouveau les principaux caractères de ces deux substances.

L'alexine (complément ou cytase) est fragile, détruite par le chauffage à 55 degrés, elle exerce indifféremment son action, sur les cellules ou les microbes : elle n'est nullement spécifique : pour Büchner, il n'y a qu'une alexine, absolument indifférente. Il y en aurait deux pour Metchnikoff, l'une serait une macrocytase d'origine lymphoïde avec un rôle surtout cytolytique, l'autre, microcytase dérivant de la moelle osseuse serait bactérioly-

tique. Pour Neisser et Wechssberg il y aurait au contraire pluralité des alexines.

La sensibilisatrice (ambocepteur, fixateur) n'existe que dans le sérum des organismes immunisés, ou si toutefois elle existe dans les sérums normaux, elle y est totalement dénuée d'activité : elle résiste au chauffage à 60 degrés, elle est étroitement spécifique.

Ajoutons que récemment Mlle Cernovodeanu et M. V. Henri, ont discuté l'existence même d'une sensibilisatrice, et d'une alexine : les propriétés différentes du sérum, avant et après chauffage à 60 degrés, traduiraient pour ces auteurs, simplement les modifications survenues dans l'état physique des constituants colloïdes du sérum.

Revenons maintenant à notre interprétation des énergies mises en activité pour débarrasser l'organisme des microbes qui l'ont envahi.

Nous venons de voir la sensibilisatrice s'interposer entre les substances *bactéricides* (alexine) et les *bactéries*, opérant ainsi une véritable combinaison entre les unes et les autres.

Il nous faut signaler maintenant l'existence dans le sérum, de substances s'interposant entre les phagocytes et les bactéries, pour favoriser l'englobement de celles-ci par ceux-là, ce sont les substances BACTÉRIOTROPES (Neufeld).

Ainsi croyons-nous peut se résumer le mécanisme de l'immunité anti-infectieuse.

Contenus dans le sang normal

PHAGOCYTES	+ SUBST. BACTÉRIOTROPES	+ BACTÉRIES VIRULENTES
SUBST. BACTÉRICIDES (*Alexines, compléments*)	+ AMBOCEPTEUR (*subst. sensibilisatrice, fixateur*)	+ BACTÉRIES VIRULENTES

Comment agissent ces substances *bactériotropes* ?

Elles peuvent agir, ou bien en *exaltant* le pouvoir phagocytaire des leucocytes, ou bien en *atténuant* la virulence ou la résistance des microbes pathogènes, ou peut-être par l'union de ces deux procédés. Pour Metchnikoff et son école, si les leucocytes d'un animal vacciné contre une infection spécifique sont devenus aptes à dévorer les bactéries même les plus virulentes géné-

ratrices de cette infection, cela tient surtout à une cause : les injections vaccinales ont fait apparaître dans le sang de l'animal des STIMULINES dont le rôle est d'accroître le pouvoir phagocytaire des globules blancs.

En Angleterre, en Allemagne l'on croit plutôt qu'il s'agit d'une *atteinte portée aux bactéries virulentes.*

Mais quelles sont ces substances particulières, est-il possible d'en affirmer l'existence, d'en étudier le mécanisme ?

Ce sont ces substances, que Wright a individualisées et décrites sous le nom d'*opsonines.*

Avant Wright, Denys et l'école de Louvain d'une part, Metchnikoff et Sawtchenko d'autre part, avaient rapporté des faits ayant plus d'un point commun avec la théorie des opsonines : il n'en n'est pas moins vrai que Wright a eu le mérite d'avoir remis à l'ordre du jour l'étude des propriétés phagocytaires des leucocytes, d'avoir donné un nom à ce *phénomène de l'opsonisation* et d'avoir poussé très loin dans le laboratoire du Saint-Mary's Hospital à Londres, l'étude de ces phénomènes.

Par définition, les opsonines, du grec (οψονεω *je prépare, j'apprête), sont donc des substances solubles contenues dans les sérums normaux et les immun-sérums, intermédiaires aux phagocytes et aux microbes, et qui interviennent dans l'acte de la phagocytose pour l'exagérer et la rendre plus efficace.*

Plan

DES RECHERCHES EXPOSÉES DANS CETTE THESE

Ces recherches ont été divisées en QUATRE PARTIES : *une première groupe les faits* TECHNIQUES et BIOLOGIQUES ; *les trois autres* l'application de la méthode A LA CLINIQUE.

PREMIÈRE PARTIE

Après avoir aussi brièvement que possible résumé les travaux qui, sans contenir le mot *opsonine* en renfermaient néanmoins l'idée, nous exposerons la conception de Wright et Douglas sur les opsonines ; nous dirons ce que ces auteurs entendent par la formule « *pouvoir opsonique* d'un sérum », et en quoi consiste la mesure dite de *l'index* (*indice*) *opsonique* (1) avec les applications qu'il est possible d'en faire à la clinique et à l'expérimentation (méthode des vaccins). Nous compléterons ce premier chapitre par un historique rapide de l'état de la question. Ce *premier chapitre* pourra s'intituler : « Définitions, Historique. »

Le *deuxième chapitre* (technique) comprendra deux parties assez arides. Dans une *première partie* nous y indiquerons les différentes techniques employées par les auteurs et celle que nous avons adoptée nous-même : nous énumérerons quelques considérations d'ordre pratique qui nous permettront de répondre aux *critiques adressées à la valeur même de la méthode ;*

---

1. M. Lapicque (opsonic index, indice opsonique). Soc. Biol., mai 1908, a fait remarquer avec raison qu'en français le mot index s'applique à un objet, à une partie d'appareil qui sert à montrer une direction, une position, tandis que le mot indice s'emploie dans les sciences physiques et naturelles, pour un caractère abstrait consistant dans le rapport de deux grandeurs expérimentales, indice de réfraction. Ce deuxième terme est plus logique, nous l'emploierons de préférence, mais le premier est tellement consacré par l'usage, que nous nous excusons à l'avance si parfois il nous arrive de nous en servir.

dans la *deuxième partie* de ce même chapitre « Technique » nous étudierons les facteurs qui interviennent dans le *mécanisme même de l'opsonisation* (influences diverses modifiant ce mécanisme) : ce sera l'étude *physico-chimique* du mécanisme de l'opsonisation, notion indispensable à acquérir, pour pouvoir interpréter les phénomènes que nous aurons ensuite à étudier.

Le *troisième chapitre* comprendra une ÉTUDE BIOLOGIQUE des opsonines : allant du simple au composé, nous rechercherons d'abord chez l'homme et les animaux sains, la présence des opsonines, puis les conditions physiologiques qui font varier la quantité de ces opsonines ; nous étudierons ensuite d'une manière un peu schématique encore, les variations du pouvoir opsonique au cours des infections ; parvenu à ce point de notre exposé, nous essaierons d'élucider : 1° **la nature** ; 2° **l'origine** ; 3° **la spécificité** de ces opsonines, questions de la plus haute importance comme nous le verrons, car elles touchent à la question d'individualité, d'existence propre de ces principes actifs du sérum.

Peut-être trouvera-t-on que nous nous sommes trop étendu sur l'étude de ces propriétés *biologiques* : il nous a paru nécessaire, indispensable, avant de passer à l'application de la méthode opsonique aux faits cliniques, de connaître du mieux possible la nature intime des phénomènes d'opsonisation, pour être justement plus en mesure de les apprécier, de les interpréter.

Cette application de la méthode opsonique aux faits cliniques constitue la *deuxième partie de notre travail.*

DEUXIÈME PARTIE

Nous exposerons d'abord le résultat de nos recherches sur **les opsonines dans la fièvre typhoïde.** Pendant notre année d'internat dans le service de M. le professeur Chantemesse au Bastion 29, nous avons pu examiner à ce point de vue un nombre considérable de malades.

Certaines de ces recherches présentent un intérêt spécial, parce que nous avons eu à interpréter, le plus souvent, des modifications opsoniques survenant chez des typhiques traités par **le sérum antityphique** de M. Chantemesse.

Nous discuterons la possibilité d'un *diagnostic* opsonique au cours de la fièvre typhoïde, puis nous schématiserons *la courbe générale* de l'indice opsonique d'une fièvre typhoïde non traitée *par le sérum* et nous lui opposerons celle d'une fièvre typhoïde *traitée par le sérum*.

Nous indiquerons les variations de cet indice au cours des différentes *complications* de la maladie (*hémorragies*, *perforations intestinales*, *reprise*, *rechute*, etc.), et les différentes conclusions à tirer de ces variations (valeur *pronostic* de l'indice opsonique, valeur THÉRAPEUTIQUE), *ainsi* que certains faits relatifs à *l'expérimentation*.

Nous étudierons enfin la nature des liens qui unissent dans leur mode d'action réciproque, les *opsonines* d'une part et certaines autres propriétés du sérum des typhiques d'autre part, (*agglutinines*, *agressines*, *antiphagines*, *précipitines*, *pouvoir bactéricide*, *amylolitique*, *hémolytique*, etc.).

TROISIÈME PARTIE

Dans une troisième partie, nous résumerons les résultats obtenus par les différents auteurs, dans l'application de cette méthode opsonique, à l'étude *de différentes maladies*. Nous nous étendrons quelque peu sur la TUBERCULOSE, mais nous serons bref sur les autres (*sporotrichose*, *staphylococcie*, *diphtérie*, *méningite cérébro-spinale*, *peste*, *charbon*, etc.)

QUATRIÈME PARTIE

Dans UNE QUATRIÈME ET DERNIÈRE PARTIE enfin, nous synthétiserons nos conclusions : 1° sur la *valeur* de la méthode opsonique en elle-même ; 2° sur sa valeur au triple point de vue : a) *diagnostic ;* b) *pronostic ;* c) *thérapeutique*.

Nous sommes redevable de l'esprit qui a guidé nos recherches biologiques, aux principes que nous ont enseignés nos maîtres du laboratoire de physiologie à la Sorbonne, en particulier M. V. Henri. Nous ne saurions trop lui en exprimer ici nos remerciements.

Nous avons pu arriver à des résultats assez complets en ce qui

concerne le chapitre fièvre typhoïde, grâce à notre séjour au Bastion 29, et surtout grâce à notre maître, M. le professeur Chantemesse, qui, après nous avoir fourni l'idée de ce travail, en a surveillé l'exécution et l'évolution, nous a guidé de ses précieux conseils, et n'a cessé de nous témoigner la sympathie et l'intérêt qu'il attachait à nos recherches ; il nous en donne aujourd'hui une nouvelle preuve en acceptant la présidence de cette thèse ; nous ne saurions trop lui dire notre respectueux attachement, et notre sincère reconnaissance.

Enfin, à tous nos maîtres dans les hôpitaux, nous adressons l'expression émue de nos remerciements pour les belles années d'étude que, grâce à eux, il nous a été possible de vivre ; auprès de tous nous avons rencontré une sympathie constante qui ne s'est jamais démentie, et qui fut pour nous, parfois le plus précieux des encouragements et toujours la preuve morale, dont nous sommes particulièrement fier, d'avoir su, par notre travail, nous faire estimer.

Première Partie

CHAPITRE PREMIER

Historique

C'est en 1902 que MM. Wright et Douglas (1) emploient pour la première fois ce terme d'opsonine et signalent l'application de la méthode opsonique à l'interprétation des résultats fournis par leurs vaccins ; mais il est hors de doute que ces auteurs furent amenés à ces conclusions, grâce à certains travaux antérieurs qui, s'ils ne contenaient pas le mot même d'opsonine, en renfermaient l'idée, le germe ; aussi est-on obligé dans l'historique d'une pareille question, de rappeler les principales recherches qui précédèrent les leurs dans cette voie. L'ensemble de ces travaux se rapporte à l'étude de la phagocytose.

En tête tout d'abord vient le nom de Metchnikoff, qui découvre la phagocytose, en décrit les moindres détails, parle de stimulines, dont le rôle est d'augmenter l'activité du leucocyte ; puis de Sawtchenko (2), qui envisage la phagocytose comme « résultant d'une *action* spéciale, s'exerçant à la fois sur le leucocyte et le microbe ». Il faut également signaler tous les travaux se rattachant à la discussion de l'existence ou de la non-existence d'une phagocytose spontanée sans sérum : cette question étant la clef de voûte de la théorie phagocytaire de l'immunité, partisans et adversaires de cette théorie devaient accumuler les recherches sur ce point, qui touche de si près aux opsonines. Sans entrer dès maintenant dans le détail de cette discussion sur laquelle nous aurons maintes fois à revenir, rappelons que

---

1. Wright et Douglas. « Notes on treatment of furunculosis, sycosis and acne by the inoculation of a staphylococcus vaccin. » *The Lancet*, mars 1902, p. 874.

2. Sawtchenko. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1901. « Rôle des immunisines dans la phagocytose ». *Ann. Inst. Pasteur*, 1902, p. 126.

dès 1895 Denys et Leclef (1) signalaient l'influence favorisante du sérum sur la phagocytose *in vitro*, fait confirmé dans la suite par Marchand (2), Mennes (3); qu'il s'agisse donc de stimuline, comme le veut Metchnikoff, de « philocytase » comme le supposent Sawtchenko et Melkich (4), de substances favorisantes comme l'enseignent Denys et Leclef et l'école de Louvain, les substances signalées par ces auteurs rappellent beaucoup au moins d'une manière générale celles que Wright a décrites sous le nom d'opsonines.

Quoi qu'il en soit, c'est à Wright et Douglas que revient le mérite d'avoir, grâce aux méthodes nouvelles de laboratoire inspirées par Leishmann en particulier (*Brit. Med. Journ.*, 1902), eu l'idée d'appliquer à la clinique et *au traitement des maladies infectieuses*, l'étude du phénomène de la phagocytose réservé jusque-là aux considérations théoriques de l'immunité.

Wright et Douglas firent connaître dès 1903 un dispositif ingénieux permettant d'observer *in vitro* l'influence exercée par le sérum sanguin sur l'absorption des microbes par les leucocytes, permettant « surtout de mesurer la force de cet englobement, d'apprécier en quelque sorte l'avidité des cellules, de jauger leur capacité digestive, et par contre-coup d'estimer l'énergie humorale qui provoque le phénomène ». Tel est le principe de la méthode opsonique.

En 1904, ces auteurs publièrent toute une série de mémoires (voir bibliographie) ayant trait à certaines particularités observées à l'aide de cette méthode.

Dans la même année, en Allemagne, Neufeld et Rimpau (5), Tœpfer (6), afin d'expliquer le mécanisme de l'immunité active ou passive contre le streptocoque ou le pneumocoque, étudient la phagocytose de ces microbes par des leucocytes en présence

1. Denys et Leclef. *La Cellule*, 1895, vol. 11, fasc. 1, p. 177.

2. Marchand. *Arch. de Méd. exp.*, 1898, p. 253.

3. Mennes. *Zeitschrif. f. Hygiene.*, 1897, vol. XXV, p. 413.

4. Sawtchenko et Melkich. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1901, p. 498, nous lisons textuellement dans cet article les conclusions suivantes : « Ces expériences démontrent que dans le protoplasma des leucocytes immunisés qui manifestent une chimiotaxie positive envers le microbe, se trouve une substance immunisante, la *philocytase* qui possède une affinité chimique spécifique vis-à-vis du microbe. »

5. Neufeld et Rimpau (*Deutsch Medizin Woch.*, 1904, n° 40, p. 1458). (*Zeitschrif f. Hygiene*, 1905),

6. Neufeld et Tœpfer (*Centralbl f. bakteriol.*, vol. XXXVIII, p. 456, 1904).

de sérum spécifique, et signalent les qualités *opsonisantes* de ces sérums.

Puis Hektoën et Ruediger (1), Bulloch et Atkin (2) font une étude complète des opsonines, et de certaines variations du pouvoir opsonique (travaux auxquels nous aurons souvent à nous reporter).

En France, les opsonines sont signalées et étudiées par Besredka (3), Lœhlein (4) ; la méthode opsonique est vulgarisée dans des articles d'ensemble parus dans la *Presse Médicale* (5), la *Semaine Médicale* (6).

Cependant, à l'étranger, les travaux se multiplient : les opsonines sont étudiées au cours de différentes maladies infectieuses aiguës et chroniques, mais plus spécialement au cours de la tuberculose.

Le but de ces recherches est d'apprécier les résultats obtenus par la *méthode des vaccins imaginée* par Wright ; c'est dire qu'entre les mains de ces auteurs, la méthode opsonique revêt un caractère pratique extrêmement intéressant. A ces recherches sont attachés les noms de Wright, Bulloch (7), Lawson Stewart (8), Urwick (9), Meakin et Wheeler (10), Reid (11), Crace Calvert (12), Fernet (13), Gray (14), Lœhlein (15), Sauerbeck (16), Weinstein (17), Bœlke (18), Kæmmerer (19), Bine (20).

---

1. Hektoën et Ruediger. *Proceed of the Royal Society*, t. LXXIII, p. 128, 1905.
2. Bulloch et Atkin. *Idem.*, 1905, p. 379.
3. Besredka. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1904, p. 363.
4. Lœhlein. « Phagocytose *in vitro* ». Deux mémoires. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1905, p. 647 et 1906, p. 939.
5. *Presse Médicale* (Romme), 1906. « Les opsonines et la phagocytose », p 360 ; et en 1905, une traduction d'un article de Wright par Jousset.
6. *Semaine Médicale*. « La méthode opsonique au point de vue du pronostic et du traitement de la tuberculose », 1906, p. 122.
7. Bulloch. *Trans. Path. Soc.*, Londres, 1905.
8. Lawson Stewart. *Roy. Med. an Surg. Soc.* Londres, 1905.
9. Urwick. *Brit. Med. Journ.*, 1905,
10. Meakin et Wheeler. *Brit. Med. Journ.*, 1905.
11. Reid. *Proced of the Royal. Soc.*, Londres, 1906.
12. Crace Calvert. *Brit. Med. Journ.*, juillet 1906.
13. Fernet. *Brit. Journ. of. Dermat.*, 1906.
14. Gray. *Lancet*, avril 1906.
15. Lœhlein. *Münch Med. Wochenschr.*, n° 30, 1907.
16. Sauerbeck. *Neue Tatrachen ünd theorien in der immunitætsforschung*. Wiesbaden, 1907.
17. Weinstein. *Berl. klin. Wochens.*, n^os^ 30 et 39, 1907.
18. Bœlke. *Deutsche Med. Woch.*, n° 37, 1907.
19. Kæmmerer. *Münch Med. Wochensch.*, n° 44, 1907.
20. Bine. *Munch Medizin. Woch.*, n° 51, 1907.

Cette question fait l'objet d'un rapport très complet de M. Jousset à la Société d'études scientifiques sur la tuberculose (1). A de multiples points de vue, clinique, thérapeutique, biologique, les opsonines sont encore étudiées à l'étranger. Nous ne pouvons citer tous les travaux parus sur la question. A propos de chaque fait nous indiquerons au cours du travail, les recherches s'y rapportant. Néanmoins à cause de leur importance, nous croyons devoir signaler, à l'étranger, les travaux de Hektoën (2), Muir and Martin (3), Simon, Lamar and Bispham (4), Hideyo Noguchi (5).

En France en dehors des articles que nous avons déjà signalés, les opsonines sont surtout connues grâce à une série de communications de Levaditi (6) à la Société de Biologie, à un article de Bossan (7), et à deux articles de Levaditi (8), parus dans la *Presse Médicale*.

Signalons également les recherches de Breton et Petit (9) sur les propriétés opsonisantes des sérums dans la fièvre typhoïde, la communication de M. le *professeur Chantemesse* (10) au Congrès de Berlin (communication à laquelle il a bien voulu nous associer), les travaux de Sleeswijk (11) la revue d'ensemble de Ricklin (12).

Il est impossible d'énumérer tous les travaux parus ; la recherche des opsonines a conquis sa place dans les laboratoires ; M. le professeur Roger les a étudiées dans son cours de la Faculté (1907-1908), tous les périodiques contiennent depuis un an des analyses d'articles traitant des opsonines.

---

1. Jousset. *Bull. Méd.*, 11-18 mai 1907.
2. Hektoën. *Journ. of. inf. Diseases*, 1906, p. 434.
3. Muir and Martin. *Brit. Med. Journ.*, 1906, p. 1783.
4. Simon, Lamar and Bispham. *Journ. of Exp. Med.*, 1906, p. 631.
5. Hideyo Noguchi. *Journ. of Exp. Med.*, nº 4, 1907.
6. Levaditi et Inmann, Levaditi et Roché, Levaditi et Kœssler. C. R. Soc. de Biol., 1907.
7. Bossan. *Gaz. des Hôp.*, janvier 1907.
8. Levaditi. *Presse Médicale*, 31 août et 7 septembre 1907.
9. Breton et Petit. Propriétés opsonisantes du sérum dans la fièvre typhoïde. Soc. biol., mai 1907.
10. Congrès de Berlin, sept. 1907 : sérothérapie antityphique, opsonisation antityphoïde.
11. Sleeswijk. *Ann. Inst. Past.*, 1907, p. 983.
12. Ricklin. *Revue internationale de clinique et de thérapeutique*, 1908.

Qu'il nous suffise de signaler particulièrement en dehors de toutes les recherches de Wright, les travaux de Levaditi en France, la revue critique de W. Allen (1) en Angleterre et de Sauerbeck (2) en Allemagne.

---

1. W. Allen. *The opsonic method of treatment.* London, 1907.

2. Sauerbeck. (Die neuen theorien über immunitæt. die opsonin theorie. Ergebnisse der allegemeinen. Path. heraus gegeben von o Lubarsch ùnd R. Ostertag, 1907, t. XI, p. 716.

CHAPITRE II

Notions générales. — Définitions. — Phagocytose spontanée. — Technique de la méthode opsonique. — Observations relatives à cette technique

I. — *Notions générales. — Définitions*

Les opsonines, avons-nous dit, sont des substances solubles contenues dans les sérums normaux ou les immun-sérums spécifiques, et qui interviennent dans l'acte de la phagocytose pour l'exagérer et la rendre plus efficace.

Avant d'entrer dans l'étude détaillée de la question, et sans vouloir encore donner des détails techniques très circonstanciés, il est nécessaire cependant d'expliquer sommairement, comment on recherche le pouvoir opsonique d'un sérum, et ce que l'on doit entendre par indice opsonique.

La technique de la méthode de Wright consiste essentiellement à mettre en contact dans une même proportion : 1° *des globules blancs lavés ;* 2° *une émulsion de bacilles ;* 3° *le sérum du malade.*

Le tout est mélangé et laissé en contact à l'étuve à 37 degrés pendant quinze à vingt minutes ; on fait alors avec ce mélange des préparations que l'on colore par les méthodes usuelles ; on compte au microscope la proportion moyenne de bacilles englobés par chaque leucocyte polynucléaire. Si l'on a compté 100 polynucléaires ayant englobé par exemple 220 microbes, on dira que le *pouvoir opsonique* de ce malade vis-à-vis le microbe spécial est 2,20.

On répète la même opération, mêmes globules blancs, même émulsion de bacilles, mais en se servant cette fois du sérum d'un individu normal.

Si on a compté par exemple 100 polynucléaires ayant phagocyté

150 bacilles on dira que le *pouvoir opsonique* du sérum normal est de 1,50.

A l'aide de ces deux résultats il nous est possible de calculer maintenant l'*indice opsonique*.

L'indice opsonique est représenté par le *rapport* du coefficient phagocytaire du sérum à étudier en fonction du coefficient phagocytaire du sérum d'un sujet normal, dans l'exemple pris plus haut. $\frac{2,20}{1,50} = 1,47$.

N'oublions pas cette distinction, entre le *pouvoir opsonique* d'une part, et l'*indice opsonique* d'autre part, ce dernier étant *un rapport*.

Cette méthode consiste donc essentiellement à apprécier l'impulsion particulière donnée par le sérum aux leucocytes, impulsion qui va leur permettre d'englober, de phagocyter les bacilles.

Elle repose donc sur cette notion sous-entendue, que la phagocytose ne s'exerce utilement que grâce à l'influence de ces substances contenues dans le sérum, peut-être même, que la phagocytose n'a lieu que si ces substances sont là pour la provoquer, fait théorique du plus haut intérêt, puisque, suivant la réalité de l'une ou l'autre de ces deux hypothèses, il s'ensuit que l'on rattache l'opsonisation à la série de faits étayant la théorie *phagocytaire* de l'immunité de Metchnikoff ou, au contraire, à la théorie *humorale* de Büchner.

Phagocytose spontanée. — Nous abordons là un des côtés théoriques particulièrement intéressant de cette étude des opsonines : disons tout de suite que cette position spéciale du problème est sans doute la raison des idées assez contradictoires successivement émises sur les opsonines, suivant que les auteurs, partisans de telle ou telle théorie, y cherchaient des arguments pour appuyer ou infirmer la théorie humorale ou la théorie phagocytaire.

Nous ne nous laisserons pas entraîner trop loin dans l'exposé de ces théories doctrinales ; nous essaierons seulement de préciser ce point : y a-t-il oui ou non une phagocytose spontanée se produisant sans le secours du sérum ?

Flügge et Büchner, partisans convaincus et exclusifs de la théo-

rie humorale, affirment que les globules blancs sont incapables de phagocyter, en dehors de l'intervention de certaines substances du sérum. Wright et Douglas, au début de leurs recherches, nièrent également avec Bulloch et Atkin l'existence de phagocytose spontanée.

Cependant dès 1895, Bordet (1) relate des expériences de phagocytose entreprises avec des leucocytes de cobaye débarrassés de toute trace de sérum et des streptocoques, dans lesquelles la phagocytose est constatée en dehors de toute action du sérum.

Lambotte et Stiennon signalent à leur tour l'englobement de certains microbes par des globules blancs lavés et suspendus dans de l'eau salée isotonique.

Ces recherches confirment celles de Metchnikoff (article « Phagocytose », in Kolle et Wassermann (*Handbûch der path. Microorg.* Iéna, 1905) établissant la réalité de la phagocytose spontanée. D'ailleurs Lœhlein (2) dans une série de recherches prouve surabondamment que les leucocytes seuls, débarrassés de tout sérum par un lavage soigneux, peuvent phagocyter. Voici les conclusions de ce mémoire : « Les leucocytes de cobaye lavés plusieurs fois et par conséquent entièrement débarrassés de la sensibilisatrice renfermée dans les humeurs et de toute *autre substance soluble* supposée capable de favoriser la phagocytose, englobent et digèrent *in vitro* des microbes pathogènes (bactéridie charbonneuse, vibrion cholérique, certaines races de streptocoque et de bacterium coli) ; la phagocytose est donc un acte cellulaire qui peut s'opérer en dehors de l'intervention de principes actifs contenus dans ces humeurs. » Il faut cependant faire remarquer que dans un nouveau travail (*Annales de l'Institut Pasteur*, nov. 1906), Lœhlein écrit dans ses conclusions : « La phagocytose *in vitro* de microbes pathogènes par les leucocytes du cobaye dépend dans un nombre restreint de cas de la présence de substances favorisantes (opsonines) à l'état libre. »

Ce qui a conduit Wright, Bulloch et Atkin à nier la phagocytose spontanée, c'est que dans leurs expériences le temps de

1. Bordet, Soc. Roy. des Sc. Méd. de Bruxelles, 1895.
2. Lœhlein, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1905, p. 647.

contact entre les globules blancs et l'objet à phagocyter n'était que de quinze minutes.

Or Lœhlein a montré qu'il suffisait de prolonger le temps de contact à 30 minutes, pour assister à une phagocytose spontanée incontestable.

Levaditi et Inmann (1) ont répété et confirmé ces expériences : il y ont apporté un élément nouveau, négligé jusque-là, l'importance de l'âge de la culture et de la virulence du germe : la phagocytose se produisant bien plus facilement avec une culture âgée qu'avec une culture jeune.

Nous avons répété cette expérience fondamentale un certain nombre de fois ; ces recherches nous ont permis tout d'abord de préciser un point de technique, à savoir la difficulté que l'on rencontre à débarrasser les leucocytes de toute trace de sérum ; il faut pour y arriver, employer deux lavages successifs dans l'eau physiologique, laisser les leucocytes se tasser un moment dans le tube, puis recommencer encore une fois le lavage.

En nous mettant très exactement chaque fois dans ces conditions, nous avons constaté : 1° l'existence d'une phagocytose spontanée incontestable, *assez minime* mais se produisant d'une manière assez rapide et 2° le faible *accroissement* de cette phagocytose par la durée du contact.

Des recherches analogues de Sauerbeck prouvent également que le leucocyte peut exercer ses fonctions phagocytaires sans le concours de substances favorisantes opsoniques.

Wright a fini par reconnaître lui-même la réalité de ces faits : il estime toutefois qu'il existe, entre la phagocytose autonome et la phagocytose provoquée, de grandes différences quantitatives et qualitatives, la phagocytose avec sérum étant beaucoup plus *active* ce qui est parfaitement *incontestable*. Pour Wright et son préparateur Freeman, un observateur expérimenté peut distinguer d'ailleurs la phagocytose spontanée à ce fait, qu'à côté de nombreux leucocytes vides, se voient de rares éléments farcis de microbes. Mais notion plus importante, on peut en modifiant la concentration saline des milieux où on opère, entraver complètement cette phagocytose spontanée ; cette solution correspond à 1, 4 5 0/0 de NaCl.

1. Levaditi et Inmann. *Soc. de Biologie*, 1907, p. 869.

Ces variations de la phagocytose spontanée sous l'influence de la teneur variable en NaCl ont été particulièrement étudiées par Hamburger et Hekma (1) : l'augmentation de la teneur en NaCl de 0,9 0/0 à 1,22 0/0 abaisse la phagocytose de 31 0/0 à 6,68 0/0. Quand la teneur en NaCl a atteint 1, 45 0/0, on n'observe plus aucune phagocytose. Cette diminution de phagocytose n'est pas durable ; si on transporte les leucocytes dans une solution de NaCl à 0,9 0/0, ils retrouvent leur activité primitive soit totalement, soit en partie.

En résumé signalons le fait pratique suivant : Si l'on doit admettre la réalité de la phagocytose spontanée, il est néanmoins évident qu'il suffit d'ajouter au mélange de leucocytes et de bacilles un peu de sérum, pour provoquer une phagocytose beaucoup plus considérable.

Le sérum contient donc des substances qui favorisent dans des proportions considérables la phagocytose : ce sont ces substances que l'on appelle les *opsonines* ; elles sont des adjuvants de l'acte phagocytaire mais ne suffisent pas au point de vue doctrinal, à *résumer* tout l'acte phagocytaire. Wright et Douglas ont constaté la présence de ces opsonines dans le sérum *normal* humain : ils ont montré que ce sérum exerçait une influence opsonisante sur la phagocytose d'un grand nombre de microbes.

Ils ont ensuite constaté que le sérum d'individus sous le coup d'une infection bien déterminée, exerçait une action spécialement favorisante sur le microbe pathogène incriminé. De plus en injectant les cultures chauffées du microbe les auteurs ont enfin vérifié que sous l'influence de ce traitement, le pouvoir opsonique du sérum du malade allait en croissant.

Faisant table rase de tout esprit doctrinal, et ne songeant qu'au fait pratique suivant : possibilité de mesurer le pouvoir opsonique, phagocytaire d'un sérum, il est facile de se rendre compte de l'intérêt de ces recherches.

Pouvoir évaluer d'une manière précise, palpable, l'énergie avec laquelle, les polynucléaires d'un individu infecté par une bactérie quelconque, entrent en lutte, c'est à chaque instant de l'évolution de son affection, être renseigné sur le fond même de

1. Hamburger et Hekma. Quantitative Studien über phagocytose. Einfluss von Wasserentziehung. (*Bioch. Zeitsch.* vol. VII, fasc. 1 et 2, p. 102-116) 1908.

son état morbide, c'est assister vraiment au combat incessant que se livrent dans ses humeurs, phagocytes et bactéries, c'est pouvoir prévoir soit la résistance de cet individu, soit constater à l'avance sa déchéance, c'est suivre *in situ* l'effet direct de telle ou telle thérapeutique, c'est peut-être en cas de doute permettre de juger le diagnostic.

Valeur clinique d'une part, intéressant le diagnostic, le pronostic, l'évolution toute entière et la thérapeutique, valeur théorique doctrinale d'autre part, comme nous venons de le voir, telle est l'importance de cette méthode, et la diversité des problèmes qu'elle soulève; faut-il ajouter qu'elle est loin de donner la solution absolument satisfaisante et sûre dans tous ces cas ?

Exaltée par les uns qui la prônent à l'excès, la méthode opsonique est au contraire absolument rejetée comme inexacte, infidèle par d'autres auteurs. Nous croyons que comme presque toujours d'ailleurs, la vérité est dans une sage mesure et que sans vouloir tout demander à cette méthode, sans la considérer comme la clef de tous les mystères, elle peut néanmoins nous fournir de précieux renseignements.

Mais pour réussir, la précaution indispensable consiste tout d'abord en la possession d'une bonne technique, et, faut-il le dire, en une certaine pratique qui ne s'acquiert que par l'expérience.

Nous allons exposer les diverses techniques employées, en insistant volontiers sur certains points de détail, dont la connaissance évitera peut-être quelques erreurs.

Faut-il ajouter que la meilleure technique est en somme, toutes choses égales d'ailleurs, celle que l'on connaît le mieux et dont on a le plus l'habitude ?

TECHNIQUE

La technique que nous allons exposer est celle dont se sont servie Wright et Douglas ; elle nous a été enseignée par Levaditi, à l'obligeance duquel nous nous plaisons à rendre ici hommage.

Toute expérience d'opsonisation comporte la mise en jeu de trois

facteurs : le leucocyte, le microbe destiné à être phagocyté et le sérum à étudier.

Il est indispensable tout d'abord de signaler la nécessité de se servir de leucocytes humains, dans toutes les expériences ayant trait à l'étude de l'opsonine des sérums humains. Bien des divergences dans les résultats signalés par divers auteurs, tiennent sans doute à ce que dans certains cas, on s'est servi de leucocytes de lapins ou de cobayes et dans d'autres cas de leucocytes humains (1).

D'une manière générale, on peut dire que si l'on se sert de leucocytes de lapins ou de cobayes pour étudier l'opsonine des sérums humains on obtiendra un chiffre beaucoup trop faible.

Il en est de même si l'on étudie les opsonines de sérum d'animaux en se servant de leucocytes humains, mais dans ce cas l'erreur est moins forte. L'erreur est moindre encore si l'on se sert de leucocytes d'un animal pour étudier le sérum d'une autre espèce d'animal.

Il serait intéressant de pénétrer la nature intime de ce phénomène, qui se rattache fortement à notre avis à toutes les questions de phagocytose spontanée, de résistance des leucocytes, d'activité particulière des leucocytes.

1° *Préparation des leucocytes.* — On obtient du sang par piqûre du doigt (homme) ou de la veine de l'oreille (lapin). Une trentaine de gouttes de sang sont recueillies dans un tube à centrifuger stérilisé, contenant une dizaine de centimètres cubes de la solution suivante citratée, stérilisée qui empêche la coagulation :

1000 cmc. eau distillée
9 gr. NaCl
15 gr. citrate de soude

On agite doucement pour bien mélanger le tout et on centrifuge quinze minutes.

On décante le liquide surnageant à l'aide d'une pipette et on le remplace par de l'eau salée à 0, 85 0/0. On mélange bien à nouveau et on centrifuge quinze minutes.

On décante de nouveau le liquide surnageant, le plus complètement possible en évitant de remuer le culot. Pour cela, nous conseillons de décanter à l'aide d'une pipette adaptée à un tube de caoutchouc, ce qui donne plus d'aisance et de précision.

Ceci fait, on dépose le tube sur un plan légèrement incliné : au bout

---

1. Pour étudier les propriétés opsonisantes des sérums de la fièvre typhoïde Breton et Petit ont employé des leucocytes de cobayes, ils ont obtenu des résultats beaucoup plus faibles que s'ils s'étaient servis de leucocytes humains.

de quelques minutes la couche superficielle, si la centrifugation a été bien faite, sera surtout constituée de globules blancs mêlés à quelques hématies (couche crémeuse). Certains auteurs conseillent d'aspirer alors cette couche superficielle dans un verre de montre avant de s'en servir pour les expériences. Nous croyons qu'il est plus rationnel de ne pas pratiquer ce temps de la technique et de puiser directement dans la couche superficielle du tube à centrifugation. Signalons que parfois, malgré le soin pris à décanter il vient à la surface quelques gouttes d'eau physiologique. On les extraira par simple capillarité à l'aide de pipettes effilées.

Pour se débarrasser des globules rouges certains auteurs (dont Wright) proposent de traiter ce mélange par quelques gouttes d'acide trichloracétique qui laque les globules rouges : il ne reste que les globules blancs ; les préparations seraient ainsi plus belles et plus nettes.

Nous craignons que l'action de cet acide trichloracétique, ne soit un élément de plus qui vienne modifier le mécanisme de l'opsonisation, et l'activité du leucocyte ; aussi avons-nous préféré ne pas employer ce procédé ; pour avoir suffisamment de leucocytes, il suffit : 1° de prélever une assez grande quantité de sang ; 2° de pratiquer une longue centrifugation; 3° de laisser le tube incliné, près d'une demi-heure avant d'opérer sur la couche crémeuse superficielle.

Combien de temps sont utilisables ces leucocytes ; Wright et Douglas affirment que l'on peut s'en servir sans fausser les résultats pendant plusieurs heures ; Charles-E. Simon, ne permet de les conserver que deux à trois heures. Il nous a paru qu'il n'y avait aucune différence tenant aux leucocytes, même si ces leucocytes étaient conservés tout un après-midi dans le laboratoire, c'est-à-dire, six à sept heures. Les résultats nous ont paru se modifier si l'on conserve ces leucocytes *vingt-quatre heures* (et encore dans de faibles proportions).

2° *Emulsion microbienne.* — Pour préparer cette émulsion, il faut TOUJOURS dans des expériences comparatives se servir de cultures identiques, c'est-à-dire de même âge (vingt-quatre heures) en général et poussant sur un même milieu. On prélève avec un fil de platine une parcelle de la culture et on la délaie dans 2 centimètres cubes d'eau salée à 1, 5 0/0, stérilisée, en ayant soin de rendre l'émulsion aussi homogène que possible.

Il faut faire cette émulsion avec le plus grand soin, il ne faut pas

qu'il reste de grumeaux ou d'amas appréciables au microscope, il faut par transparence qu'elle apparaisse légèrement louche, sans être tout à fait opalescente, la richesse de l'émulsion gênant dans la suite l'expérience. Les auteurs ont essayé de trouver un procédé permettant la numération des bactéries, ce qui conduirait à préparer des émulsions toujours identiques à elles-mêmes. Tout d'abord on peut, si l'on veut, numérer les bactéries comme les globules du sang, à l'aide d'un hématimètre après dilution plus ou moins considérable de l'émulsion.

Mac Farland de Philadelphie (*Journ. Am. Med. Ass.*, t. XLIV, p. 1126, 1907) a imaginé un instrument, « the nephelometer », consistant en deux tubes, l'un contenant une émulsion *test* de sulfate de baryum et l'autre l'émulsion microbienne amenée au même degré de trouble. Ce procédé est évidemment facile et pratique.

Néanmoins nous ne croyons pas à une nécessité aussi absolue d'émulsions absolument identiques chaque jour.

Il va sans dire, que si l'on doit étudier seulement le pouvoir opsonique d'un sérum, le chiffre représentant cette valeur est en fonction, comme nous le montrerons, de la concentration de l'émulsion microbienne. Par conséquent, on ne pourra comparer d'une manière rigoureusement scientifique les *pouvoirs opsoniques* d'un certain nombre de sérums, que s'ils ont tous été mesurés à l'aide de la même émulsion microbienne.

Mais il n'en sera plus de même si l'on doit tenir compte seulement de *l'indice opsonique*.

Nous ne disons plus pouvoir opsonique, mais indice opsonique, c'est-à-dire rapport du pouvoir opsonique du sérum à examiner au pouvoir opsonique du sérum normal : cette valeur est indépendante, et nous le montrerons, de la concentration de l'émulsion. Il suffira donc, chaque jour, de calculer par rapport à la nouvelle émulsion, le pouvoir opsonique d'un sérum normal, pour n'avoir plus à se préoccuper de cette difficulté que paraissait comporter ce temps de la technique. De cette manière, les valeurs de l'indice obtenues à des jours différents sont parfaitement comparables, et gardent une valeur scientifique sinon absolue, au moins suffisante. Nous recommandons seulement de ne pas trop charger l'émulsion pour n'avoir pas trop de peine ensuite à numérer les bacilles.

3° Pour se procurer le sérum à examiner, il suffit de prélever le sang par piqûre du doigt, et de centrifuger, de manière à obtenir quelques gouttes de sérum bien clair.

Nous n'avons pas eu de modification dans la valeur du pouvoir

opsonique d'un sérum, que le sang soit prélevé directement dans les veines, ou simplement par piqûre à la peau. Toute autre est la question des variations de ce pouvoir chez un même individu pendant une journée : contentons-nous pour le moment d'indiquer la précaution, qui consiste à prélever tous les échantillons de sérum, chaque jour à peu près à la même heure.

Il vaut mieux également étudier les échantillons, peu de temps après qu'ils ont été recueillis ; le pouvoir opsonique baisse en effet assez rapidement au bout de trois heures.

Pour réaliser l'expérience même de l'opsonisation, on se sert de tubes capillaires obtenus en effilant à la flamme un tube en verre de 4 à 5 millimètres de diamètre. L'extrémité effilée en est coupée, d'une manière très franche avec un coup de lime ; à 2 centimètres de cette extrémité on trace un trait sur le verre, et l'on adapte à l'autre extrémité une tétine en caoutchouc (la prendre assez grosse, et en caoutchouc assez ferme) ce qui permettra mieux l'aspiration.

Ceci fait on a devant soi, commodément disposés, les leucocytes sur leur plan incliné, l'émulsion microbienne et le sérum à examiner ; après avoir vidé la tétine, en pressant dessus, on aspire d'abord une première colonne de leucocytes jusqu'au trait marqué sur la pipette, puis on laisse pénétrer une bulle d'air. On aspire alors une colonne identique à la première d'émulsion microbienne, puis une nouvelle bulle d'air, enfin une troisième colonne, pareille aux deux premières, du sérum à étudier. Le tout est repoussé et mélangé sur une lame de verre puis réaspiré dans la pipette, l'extrémité effilée est fermée à la lampe et la pipette, très horizontalement, est déposée dans l'étuve réglée à 37 ou 38 degrès (étuve spéciale à opsonine, ou étuve ordinaire).

Nous n'insisterons pas sur des difficultés légères de technique rencontrées à chaque instant, il suffit d'un peu d'habitude pour les surmonter. Le temps le plus important consiste dans le mélange des trois substances à réaliser sur la lame de verre ; on y arrive en aspirant et en refoulant à plusieurs reprises le mélange ; lorsqu'on l'aspire pour la dernière fois, il faut éviter d'introduire dans la pipette trop de bulles d'air.

On laisse la pipette à l'étuve soit quinze minutes soit vingt minutes. Il faut adopter un chiffre et s'y tenir pour toutes ses expériences ; nous avons adopté quinze minutes et dirons tout à l'heure pourquoi. Au bout de ce temps on retire la pipette ; la pointe fermée à la lampe est cassée, on mélange à nouveau le contenu du tube, et l'on dépose sur plusieurs lames de verre une certaine quantité du mélange que l'on étale assez épais. On sèche rapidement, on fixe à l'alcool-éther

ou à la chaleur et l'on colore à la thionine phéniquée, au Leishmann, à l'éosine orange, bleu de toluidine.

Nous avons adopté la fixation à l'alcool-éther et la coloration à l'éosine orange, bleu de toluidine. Cette partie de la manipulation, au moins au début, et surtout quand on n'est pas rompu à la pratique de l'étalement du sang, demande à être surveillée : d'elle dépend la facilité ou la difficulté énorme de la numération.

Il en est de cette méthode comme de tous les procédés de laboratoire : ils déroutent un peu le débutant, puis deviennent rapidement familiers. Rien ne vaut la pratique pour apprendre à effectuer cette série de manipulations, qui ne nécessitent pas d'ailleurs un temps considérable. En une demi-heure, on peut ainsi avoir sur lames fixées et prêtes à être évaluées les phagocytoses de 7 sérums différents.

Nous conseillons de répartir l'expérience de la façon suivante :

Leucocytes et bacilles émulsionnés et sérum normal. La pipette contenant ce premier mélange est mise à l'étuve, à 2 heures, par exemple et doit en être retirée à 2 h. 15.

De deux en deux minutes se succèdent les autres manipulations concernant les autres sérums à étudier ; toutes les pipettes sont à l'étuve à 2 h. 12 (nécessité d'une étuve spéciale pour éviter d'ouvrir et de fermer constamment la porte de l'étuve).

On a eu la précaution de préparer, soigneusement numérotées, des lames de verre bien nettoyées à l'alcool : 4 pour chaque échantillon.

A 2 h. 15 on pratique l'étalement du contenu de la première pipette, on fixe à l'alcool-éther, et l'on va ainsi de deux minutes en deux minutes jusqu'à 2 h. 30.

La fixation est obtenue en quelques minutes, on colore et l'on compte.

Il faut évaluer à dix minutes par échantillon le temps de la numération, temps qui varie évidemment suivant que la préparation est plus ou moins réussie. Pour le tout par conséquent, une heure dix minutes environ. En résumé, en deux heures on peut calculer le pouvoir phagocytaire de sept échantillons (non compris dans ce temps la préparation matérielle de l'expérience, c'est-à-dire préparation des leucocytes et de l'émulsion microbienne).

Le troisième temps de cette expérience est la *numération des microbes phagocytés*.

Il est indispensable de se servir d'une bonne immersion, et d'avoir un chariot mobile adapté au microscope. Les leucocytes sont sur-

tout abondants en bordure de la préparation au point où a fini l'étalement ; les bonnes préparations sont celles où chaque leucocyte, bien indépendant de son voisin, n'est pas déchiqueté. Il faut se méfier des points où il y a agglomération des leucocytes, presque fusion ; il est difficile alors de bien se reconnaître. Il faut également rejeter toute lame où d'une manière uniforme tous les leucocytes sont déformés, écrasés. Il y a eu probablement une faute de technique.

Dans quelques cas, cependant, malgré toutes les précautions prises, les leucocytes présentent un état vacuolaire, déjà signalé par Wright et que nous avons pu constater souvent nous-même. Cet état dépend-il d'une fragilité spéciale du leucocyte ? Ou bien, comme il nous a paru, cette vacuolisation dépend-elle plutôt de certains sérums ? Il est difficile de conclure. Quoi qu'il en soit, cet état vacuolaire fausse le résultat, car il n'est pas rare de trouver au fond d'une vacuole, à un très fort grossissement, un bacille très dégénéré, ce qui peut permettre de supposer que chaque vacuole est peut-être le résultat d'un englobement rapide d'un bacille (1).

Il faut également ne compter que les bacilles parfaitement phagocytés, et non ceux seulement au contact du leucocyte, à la périphérie. M. Jousset, à la suite de Wright, pense qu'il ne faut pas compter au delà de neuf bacilles pour un leucocyte ; ce chiffre est un maximum au-delà duquel on ne devrait pas aller ; très souvent nous avons trouvé cependant dix et quinze bacilles typhiques phagocytés. Observant à l'aide d'un objectif à immersion $\frac{1}{18}$ nous avons pu constater qu'il s'agissait bien dans ces cas néanmoins d'une réelle phagocytose et nous nous demandons pourquoi nous nous en tiendrions à ce chiffre 9. D'ailleurs, nous le verrons, en cas de fortes phagocytoses il vaux mieux recourir aux dilutions de sérum.

Enfin il faut se rappeler la déformation que subissent les bacilles

---

1. Il nous semble plutôt que ces modifications sont analogues à celles étudiées tout récemment par Eisenberg de Cracovie dans les *Annales de l'Institut Pasteur* (25 mai 1908) p. 431, « Des leucocidines et hémolysines chez les anaréobies ». L'action directement nocive des microbes sur les leucocytes, signalée depuis longtemps par Metchnikoff, a été étudiée depuis par Denys et Van de Velde, Borisson, Neisser et Wechsberg : parmi les poisons leucocytaires d'origine bactérienne, c'est celui du staphylocoque, sous le nom de leucocidine qui a été surtout étudié, mais des modifications analogues ont eté observées par Kiener et Duclert, et Helly, en rapport avec presque tous les microorganismes. Cette notion doit se retrouver par conséquent losqu'il sera question de la virulence du germe.

pendant la phagocytose, ou sous l'influence même du sérum (sphérulation, etc.).

La numération doit commencer par exemple au bas de la lame et être continuée en remontant peu à peu, ne tenant compte que des polynucléaires, mais en comptant sans exception tous ceux que l'on rencontrera A LA SUITE.

Si nous insistons c'est que tous ces détails ont leur importance. Il ne faut pas explorer au hasard la lame et compter çà et là les bacilles phagocytés. Il faut aller méthodiquement et compter à la suite dans *100* leucocytes polynucléaires rencontrés, les bacilles phagocytés.

Nous disons 100, c'est avec ce chiffre que l'on obtiendra les résultats les plus sûrs, cela va sans dire. Il n'est pas rare en effet de rencontrer une inégalité flagrante dans la répartition des bacilles, que le mélange ait été mal fait, ou pour toute autre cause, et dans ce cas, la moyenne réelle ne sera donnée que si elle est faite d'après un assez grand nombre d'éléments.

Nous avons modifié ainsi cette numération. Le contenu de la pipette est étalé sur *4 lames* ; toutes les quatre sont fixées et colorées , 50 *polynucléaires* sont comptés sur la première et 50 sur la deuxième. Si le résultat obtenu est à peu près identique, on fait la moyenne entre les deux, sinon on compte à nouveau 50 polynucléaires sur la troisième. De cette manière, croyons-nous, sans augmenter de beaucoup la difficulté, on obtient un résultat plus voisin de la réalité.

Telle est la technique de Wright : c'est celle que nous avons employée dans la grande majorité des cas. Nous verrons plus loin quelques détails complémentaires à son sujet. Exposons tout de suite rapidement quelques autres modifications.

Pour éviter les phagocytoses trop considérables, gênant la numération, en particulier lorsqu'il s'agit de staphylocoques, Charles-E. Simon a modifié cette technique, en faisant systématiquement plusieurs dilutions titrées de sérum, toujours les mêmes.

Cet auteur a d'ailleurs été conduit à pratiquer cette modification, par la constatation des variations considérables du pouvoir opsonique, dans ces dilutions. Certains sérums perdent très rapidement leur pouvoir. D'autres, au contraire, le conservent longtemps. Nous aurons à utiliser dans notre étude et cette constatation et cette méthode. Les dilutions de sérum sont faites dans des solutions salées à $\frac{1}{2}$ 0/0.

Avec le sang humain on prépare une dilution à $\frac{1}{20}, \frac{1}{30}, \frac{1}{40}$.

Avec le sang d'animaux on prépare une dilution à $\frac{1}{10}, \frac{1}{20}$.

L'auteur se sert de la pipette de Thomas Zeiss pour réaliser ces dilutions. Le reste de l'expérience se fait comme ci-dessus : chaque pipette reçoit un volume constant de leucocytes préparés, égalant seulement la moitié de celui du sérum dilué.

L'auteur indique de la manière suivante le résultat :

1 = 20	100 0/0 +
1 = 30	92 0/0 +
1 = 40	64 0/0 +

Ces deux techniques, avec quelques modifications, sont celles adoptées en Allemagne, par Strübell, Sauerbeek, et bien résumées dans le travail de R. Bine und Lissner in *Münch. Medicin Wochenschr.*, n° 51, 1907. Plus récemment R. L. Veitch (*Journal of Pathol. and Bact.*, janvier 1908) a indiqué la technique suivante : sur un tube de verre capillaire on marque à partir de son extrémité trois index dont le premier sera par exemple à une distance de 2 centimètres, le second de 4 centimètres et le troisième de 5 centimètres.

Avec cette pipette on aspire du sang jusqu'au premier index puis aussitôt après une solution de citrate de soude à 1,5 0/0 jusqu'au deuxième index et enfin jusqu'au troisième l'émulsion bactérienne.

On a donc dans la pipette 2 volumes de sang, 2 volumes de citrate et 1 volume d'émulsion.

On effectue bien le mélange, on aspire à nouveau dans la pipette et on procède comme il a été déjà dit.

L'auteur a vérifié pour un même sang le pouvoir phagocytaire des leucocytes lavés, puis additionnés de sérum et de bactéries, et le même pouvoir des leucocytes traités par le citrate : il n'a pas constaté de différence.

Nous n'avons pas employé cette méthode car elle nous paraît passible de bien des critiques, dont deux d'ordre matériel (la faible quantité de polynucléaires que doivent renfermer les préparations ; et les modifications apportées au phénomène de l'opsonisation par la présence du citrate), bien que l'auteur déclare arriver à l'aide de cette technique simplifiée à des résultats à peu près identiques à ceux de Wright.

Adressons maintenant à cette méthode qu'il s'agisse de sérum pur ou de sérum dilué, un certain nombre de critiques.

Critiques *adressées à la technique de Wright*
Valeur de ces critiques

Tout d'abord il entre en jeu dans les diverses manipulations énumérées un facteur dont il faut savoir tenir compte, c'est le coefficient personnel.

De cette constatation, découle le fait pratique suivant : pour une même expérience toute la numération au microscope doit être faite par la même personne, qui adoptera toujours la même conduite, dans les cas où il y aura difficulté d'interprétation (bacille en bordure du polynucléaire, bacille à l'intérieur d'un éosinophile, etc.).

Que faudra-t-il faire si la préparation contient des leucocytes en vacuoles ? 1° La recommencer : il y a peut-être eu une faute de technique ; 2° Si malgré les précautions prises il se produit encore des vacuoles, il faudra indiquer, en même temps que le résultat, l'existence de cette vacuolisation (cause d'erreur). Si la préparation contient des leucocytes déchirés, étirés, flous, la recommencer en faisant le mélange des leucocytes et des bacilles avec douceur, et en étalant légèrement en couche épaisse.

Toutes les critiques adressées à la méthode opsonique en général ont été réunies par Benjamin Thomas (1) dans un récent travail.

Nous allons les énumérer et les discuter.

L'auteur signale tout d'abord :

a) *Le coefficient personnel,* qui vient fausser le résultat final.

Nous admettons cette critique ; nous pensons toutefois qu'on en diminue l'importance en exigeant que ce soit la même personne qui examine au microscope les préparations d'un groupe d'expériences, et nous demandons, si ce coefficient personnel n'intervient pas aussi, dans d'autres procédés de laboratoire, que l'on n'a pas condamnés pour cela, tels que les numéra-

---

1. Benjamin Thomas. Variability und unreliability in the determination of the opsonic index. *Journ. Am. Med. Assoc.*, t. XLIX, p. 1249-1254, 1908.

tions globulaires, les appréciations d'hémolyse, de résistance globulaire, certains dosages.

b) *La simple superposition* des bactéries aux leucocytes, prises pour de la phagocytose : il ne nous a pas paru que cette difficulté fût insurmontable et outre que le fait ne se produit pas souvent, il est, croyons-nous, facile de conclure en cas de doute.

c) *La phagocytose spontanée.* — Nous avons vu ce qu'il fallait en penser : elle est si minime que tout d'abord un grand nombre d'auteurs l'ont niée ; elle demande en outre pour se produire d'une manière active un laps de temps bien supérieur à celui des expériences ordinaires d'opsonisation.

d) *La durée de contact.* — Suivant la durée du contact entre les leucocytes, les bacilles et le sérum, le résultat obtenu est modifié : pour éviter cette critique il suffira d'adopter pour toutes les expériences comparatives la même unité de temps.

e) *Les phénomènes de dégénérescence des leucocytes.* — En dehors des phénomènes de vacuolisation que nous avons signalés, il suffira, pour éviter ces modifications des leucocytes, de s'en tenir aux règles que nous avons exposées dans la technique.

f) *Atténuation progressive et rapide du pouvoir opsonique du sérum.* — Cette atténuation est loin d'être aussi rapide que l'indique l'auteur.

g) *Richesse de l'émulsion microbienne, différentes races de microbes, virulence*, etc. — A propos de cette critique, la plus sérieuse à notre avis, nous nous permettons d'entrer dans quelques détails.

Quel est le but de la méthode opsonique ? Permettre d'apprécier le pouvoir phagocytaire d'un sérum.

Si, par exemple, sur 100 leucocytes comptés, on a trouvé 450 bacilles, on dira que le pouvoir opsonique du sérum examiné est de 4,50. Que ce pouvoir soit en fonction de l'émulsion microbienne cela est hors de doute, et c'est bien ce qui résulte par exemple d'expériences que nous avons faites, pour établir le bien-fondé de cet argument.

Voici résumées quelques-unes de ces expériences :

I. — *Sérum normal* + *leucocytes lavés*

+ Emulsion A	+ Emulsion B plus concentrée	+ Emulsion C plus concentrée
Pouvoir phagocytaire = 0,72	= 1,10	= 1,60

II. — *Sérum de typhique* + *mêmes leucocytes lavés*

+ même émulsion A	+ même émulsion B	+ même émulsion C
Pouvoir phagocytaire = 2,72	= 3,58	= 5,03

Ces chiffres sont la preuve du rôle joué dans l'estimation du pouvoir phagocytaire, par le degré de concentration de l'émulsion. Est-ce la condamnation de la méthode ? Non, certes. Il en résulte simplement que le chiffre indiqué (pouvoir opsonique) ne peut être scientifiquement comparé qu'avec des résultats obtenus en même temps que lui, grâce à la même émulsion.

Dans une telle expérience où se mélangent

Leucocytes + émulsion + sérum

deux éléments restant identiques à eux-mêmes les variations du chiffre obtenu traduisent bien les variations du troisième élément, le sérum.

Mais, nous objectera-t-on, c'est peu en somme, si les chiffres de la veille ne peuvent plus se comparer à ceux du lendemain ?

Oui certes, s'il en était ainsi, et d'avance la méthode serait vouée à l'impuissance.

Mais nous avons un moyen d'éviter cet écueil. C'est au lieu de comparer dans le temps les variations du pouvoir phagocytaire de comparer les variations de l'**indice opsonique**.

Cet indice, nous le répétons, est un *rapport* : c'est le rapport du pouvoir opsonique du sérum examiné, comparé au pouvoir opsonique d'un individu sain, calculé à l'aide de la même émulsion.

Cet indice est-il fonction de la concentration de l'émulsion ?

Reprenons les chiffres indiqués ci-dessus et calculons dans chaque cas la valeur de l'indice.

	Sérum normal Pouvoir opsonique	Sérum de typhique Pouvoir opsonique	Indice opsonique
Émulsion A.....	0,72	2,72	$\frac{2,72}{0,72} = 3,26$
Emulsion B, plus concentrée.....	1,10	3,58	$\frac{3,58}{1,10} = 3,25$
Emulsion C, encore plus concentrée...	1,61	5,03	$\frac{5,03}{1,61} = 3,12$

Les variations de l'*indice* sont insignifiantes et cette expérience a été plusieurs fois répétée et vérifiée.

Si donc il est incontestable que la concentration de l'émulsion et la virulence des germes peuvent varier d'un jour à l'autre, il nous reste un procédé nous permettant toujours de corriger cette cause d'erreur: c'est à chaque série d'expériences, de calculer, en fonction de la nouvelle émulsion, le pouvoir opsonique d'un sérum normal, qui nous servira ensuite à établir l'indice opsonique, dont la valeur numérique devient ainsi comparable dans le temps.

Ajoutons d'ailleurs que, par la pratique, on arrive à se tenir dans des limites moyennes, qu'en se servant de cultures du même âge, revivifiées par un passage, une fois par semaine, sur l'animal, on arrive à maintenir les bacilles dans un état à peu près identique de virulence.

L'idéal, évidemment, serait de se servir toujours du sérum normal provenant d'un même individu. Cette condition est quelquefois difficile à remplir, mais on peut néanmoins la réaliser pour une série d'expériences durant huit à quinze jours. On diminue d'autant les causes d'erreur.

En résumé, on ne doit comparer le *pouvoir phagocytaire* d'un sérum, qu'avec celui de *sérums examinés dans la même expérience et avec la même émulsion.*

Si l'on veut expérimenter en série, il faut chaque fois établir *l'indice opsonique* et ne comparer que les valeurs de *cet indice.* Ces notions sont de la plus haute importance, faute de les avoir suffisamment comprises, bon nombre d'auteurs ont publié des *résultats contradictoires.*

h) La dernière critique que l'auteur, déjà cité, Moss (1) et Potter (2) adressent à la méthode opsonique est la suivante : En se servant du même sérum, de la même émulsion, mais en répétant plusieurs fois l'expérience d'opsonisation, on obtient des valeurs si variables, qu'il faut absolument rejeter cette méthode.

Si cet argument était exact il contiendrait à lui seul, quelle que soit la valeur des arguments énumérés ci-dessus, la condamnation définitive de la méthode.

Ce fut pour nous dès le début de notre travail, une fois bien au courant de la technique, une obligation de premier ordre que cette vérification.

La conclusion de ces recherches fut que les variations du chiffre indiquant le pouvoir opsonique sont comprises à peu près dans les limites suivantes : au-dessous de deux elles n'intéressent que le dernier chiffre des centièmes, rarement celui des dixièmes, par exemple : 1,88, 1,80, 1,70 pour un même sérum : au-dessus de deux, le chiffre des dixièmes est presque toujours intéressé ; au-dessus de trois les variations peuvent s'étendre de 0,10 à 0,40.

Que conclure de ces chiffres, qui sont en somme des extrêmes, car assez souvent l'écart est minime ? C'est qu'en ce qui concerne l'estimation du pouvoir opsonique on ne doit pas accorder aux chiffres une valeur entièrement *mathématique* : il faut savoir ne pas discuter sur un tout petit écart.

D'une manière pratique, ne pas tenir compte du dernier chiffre des centièmes que d'ailleurs très judicieusement un grand nombre d'auteurs suppriment, ne pas attacher une importance capitale à des différences de 1 ou 2 dixièmes entre deux chiffres, surtout au-dessus de 2, moins autour de 1.

Enfin ne pas rejeter la méthode, parce que peut-être le coupable n'est pas la méthode, mais l'expérimentateur. Au lieu de la rejeter, ne vaut-il pas mieux essayer de l'améliorer ? c'est ce

---

1. Moss. Studies on opsonins. *Johnes Hopkins Hosp. Bull.*, t. XVIII, p. 195-196, 1907.

2. Potter. Further observations on opsonins in normal and pathol. ser. *Journal Am. Med. Ass.*, t. XLIX, p. 1815-1825.

que nous avons essayé de faire, par notre procédé de l'étalement sur 4 lames, et de la numération de 50 polynucléaires sur 2 lames successives, ou en tous cas la numération de 100 polynucléaires.

Et sans ironie néanmoins qu'il nous soit permis en terminant d'adresser nous-même quelques critiques à cette méthode.

Ces recherches d'opsonisation présentent, nous l'avons vu, à côté de leurs caractères théoriques une utilité pratique journalière. Or ceci est incontestable, cette méthode n'est pas d'une *pratique* facile. Il ne faut pas se le dissimuler, jamais, même dans les laboratoires des hôpitaux parisiens, cette méthode ne prendra place à côté de procédés tels que la séroréaction de Widal, la culture d'une gorge, la recherche de bacilles dans les crachats, la numération des globules du sang. Elle nécessite des préparatifs trop longs et présente, nous le répétons, une difficulté réelle dans l'exécution, au début au moins, et parfois aussi dans l'interprétation, difficulté d'autant plus grave d'ailleurs, qu'elle ne paraît pas évidente à première vue, au contraire ; elle conduit souvent dans les débuts, soit à des conclusions erronées, soit à des échecs, qui découragent.

Nous avons fait néanmoins de cette méthode et des résultats qu'elle nous a donnés le sujet de notre thèse, parce que cette question des opsonines nous a paru devoir être élargie : 1° dans un but de *biologie générale* touchant l'ensemble des propriétés du sérum et la doctrine de l'*immunité ;* 2° parce qu'il nous a paru intéressant de signaler la possibilité des applications de cette méthode à la clinique (*valeur pronostic, diagnostic, thérapeutique*), tout en faisant de sérieuses réserves sur les conclusions à en tirer ; 3° parce que peut-être enfin dans l'avenir cette méthode trouvera une application plus précise et plus utile.

N'avons-nous pas vu le « phénomène de la déviation du complément de Bordet et Gengou », après avoir surtout présenté un intérêt théorique, revêtir une utilité pratique, telle que son application au diagnostic de la fièvre typhoïde, à la séroréaction de la syphilis ?

CHAPITRE II

1° Recherches physico-chimiques relatives aux opsonines. — 2° Etude de différents facteurs qui interviennent dans le mécanisme de l'opsonisation

Ces considérations techniques terminées, et nous avons cru devoir y insister longuement à cause de leur importance, nous allons résumer les notions physico-chimiques se rapportant aux phénomènes d'opsonisation, que nous avons trouvées signalées dans les auteurs, ainsi que celles que nous avons pu personnellement établir.

Pour effectuer et exposer ces recherches sur les opsonines, nous avons suivi à peu près le plan adopté par M. V. Henri et M^lle^ Cernovodeanu, dans leurs recherches sur l'hémolyse. (Série de communications à la Soc. de Biol. de 1905 à 1907.)

Nous ne nous dissimulons pas combien toutes ces notions sont arides pour ceux que leurs études n'ont pas spécialement tourné vers ces recherches physico-chimiques : nous nous efforcerons d'être clair, ne craignant pas de détailler longuement nos expériences.

Ne faut-il voir dans ces recherches que des données scientifiques pures ; nous ne le croyons pas, et nous pensons, au contraire, que chacune d'elles trouvera une application *pratique*, soit pour contribuer à régler telle ou telle partie de la technique, soit pour nous permettre enfin d'interpréter plus judicieusement les résultats obtenus, et nous mettre également à l'abri de grossières causes d'erreur.

I. — Influence de certains facteurs sur le mécanisme de l'opsonisation (1)

a) Influence de la quantité de sérum

(Les autres éléments, leucocytes et émulsion, restant en proportion invariable.)

Voici le résultat de plusieurs expériences d'opsonisation faites avec le sérum d'un typhique et le sérum d'un individu normal ; l'émulsion était faite avec du bacille d'Eberth. Avec chaque échantillon de sérum on fit 3 expériences, la première comme il a été décrit plus haut ; puis en ajoutant 2 index, 3 index de sérum, et en ramenant chaque fois au même volume définitif, le temps d'expérience restant le même.

1° Sérum typhique

	1 index de sérum	2 index	3 index
Pouvoir opsonique	= 2,62	= 4,90	= 5,07
2° Sérum typhique			
Pouvoir opsonique	= 1,21	= 1,83	= 2,92
3° Sérum d'individu normal			
Pouvoir opsonique	= 0,97	= 1,26	= 1,60

Il résulte de cette série d'expériences : 1° que le pouvoir opsonique dépend essentiellement de la quantité de sérum mise en présence des leucocytes et des bacilles ; 2° que ce pouvoir opsonique n'augmente pas très exactement parallèlement à la quantité de sérum, mais qu'assez rapidement il tend vers une *limite*.

b) **Influence de la concentration de l'émulsion microbienne.**— Nous avons déjà suffisamment insisté sur cette par-

1. Nous n'étudierons pas dans ce chapitre l'influence que peut avoir sur l'opsonisation la présence de certaines substances contenues dans le sérum telles que agglutinines, précipitines, bactériolysines, hémolysines, agressines. Nous avons préféré reporter plus loin cette étude extrêmement intéressante des effets réciproques de ces substances les unes sur les autres, pour être plus à même d'en comprendre tout l'intérêt.

ticularité pour ne pas y revenir : rappelons notre conclusion : le pouvoir phagocytaire, opsonique, varie suivant la richesse de la concentration microbienne, mais non exactement proportionnellement aux variations de cette concentration ; ce pouvoir varie également, nous l'avons vu, suivant l'âge des cultures, la virulence des germes, etc.

c) **Influence des leucocytes**. — Cette influence s'exerce de multiples manières, elle dépend :

1° *De la nature des leucocytes*. — Les leucocytes humains sont plus volontiers impressionnés par l'opsonine des sérums, que les leucocytes des animaux.

2° *Activité, fragilité, résistance des leucocytes*.— MM. Achard et *Feullié* ont insisté sur ces modifications d'activité du leucocyte. Il est bien évident qu'il y a là un gros élément de variabilité tenant à l'activité même des leucocytes employés, suivant les sujets et suivant les maladies. Néanmoins, en se servant de leucocytes d'individus *normaux*, le plus souvent pris au même individu, et en calculant chaque fois l'*indice opsonique*, on se met singulièrement à l'abri des erreurs dues à ces variations.

3° *Quantité de leucocytes*. — Par contre la quantité de leucocytes ajoutée au mélange, modifie peu le résultat final, témoin l'expérience suivante :

1° *Sérum normal*

	Un index de leuc.	Deux index de leuc.	Trois index de leuc.
Pouvoir opsonique	= 1,20	= 1,10	= 1,00

2° *Sérum typhique*

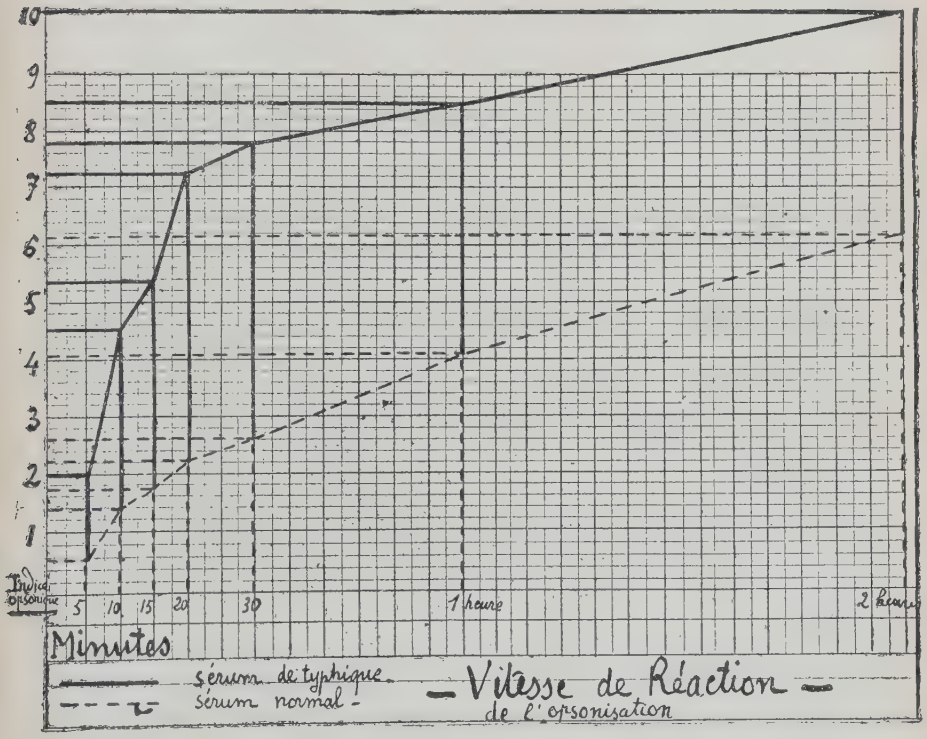
Pouvoir opsonique	= 4,00	= 3,80	= 2,74

En d'autres termes, la quantité de leucocytes incorporée au mélange modifie peu le résultat final, tout au plus une augmentation très sensible de cette quantité, amène-t-elle une légère diminution de la valeur du pouvoir opsonique primitif.

Vitesse de réaction de l'opsonisation

Nous avons essayé d'étudier d'une manière générale quelques particularités de cette vitesse de réaction.

Nos expériences ont porté sur du sérum normal et sur du sérum de typhique, en présence de leucocytes humains et de bacilles d'Eberth. Deux de nos expériences sont résumées dans le schéma suivant :



Ces expériences sont assez délicates à bien conduire et en particulier les mélanges laissés une heure et deux heures à l'étuve s'étalent difficilement : les préparations obtenues sont peu nettes. Néanmoins nous croyons pouvoir tirer quelques conclusions de ces expériences.

1° D'une manière générale, en ce qui concerne les trente premières minutes, le pouvoir phagocytaire croît d'une manière à peu près régulière, sinon absolument proportionnelle au temps, pour le sérum normal. Il n'en est pas de même pour les immun-sérums ;

2° Au delà de trente minutes, en particulier au bout d'une heure, la vitesse de réaction se ralentit considérablement en ce qui concerne le sérum d'un individu atteint de fièvre typhoïde, tandis qu'elle augmente encore très notablement pour le sérum d'un individu normal.

Ceci nous montre l'importance de la richesse en opsonine d'un sérum sur sa vitesse de réaction (propriété le rapprochant des ferments). Cette influence est surtout manifeste au début de la réaction, *d'où cette loi ;* lorsqu'on voudra déterminer la richesse de différents sérums en opsonines, ce sera surtout *au début de la réaction que les comparaisons devront être faites.*

L'énoncé de cette loi nous a conduit par conséquent à adopter, pour nos recherches, une limite assez rapprochée du début de la réaction.

Nous avons adopté quinze minutes comme durée de toutes nos expériences d'opsonisation parce que : 1° c'est à partir de quinze minutes que la marche de l'opsonisation paraît s'établir de la manière la plus régulière ; 2° parce que la valeur moyenne de l'indice opsonique est obtenue également à ce moment de l'expérience.

En effet, au bout de deux heures par exemple, la valeur de cet indice s'abaisse considérablement par suite de l'augmentation rapide à ce moment du pouvoir opsonique du sérum normal.

Influence de la quantité de sérum sur la vitesse de réaction. — Cette vitesse de réaction dépend aussi de la quantité de sérum, mais il ne semble pas que l'on vérifie ici la loi d'Arrhénius établie à propos de l'hémolyse (la vitesse d'hémolyse augmente comme le carré de la quantité du sérum).

Les quantités variables de sérum, ajoutées au mélange, augmentent la vitesse de réaction d'une manière assez sensible au début, puis cette influence semble se modérer, ce qui paraîtrait établir l'existence d'une limite au pouvoir opsonique, particularité qui le différencierait des ferments.

b) *Influence de la concentration de l'émulsion sur la vitesse de réaction.* — Cette concentration exerce une influence sur la vitesse de réaction, au début de la réaction : cette particularité est un élément de plus de différenciation entre les opsonines et les ferments solubles (la vitesse de réaction des ferments solubles est indépendante de la concentration, au moins pour les concentrations moyennes).

Afin de mieux comprendre la valeur des faits qui vont suivre, nous allons résumer en quelques lignes les notions que nous venons déjà d'acquérir.

I. — Le phénomène simple de l'opsonisation est influencé :

1° Par la concentration de l'émulsion microbienne, par la *nature* (la virulence) des germes employés à cette émulsion ;

2° Par l'origine des leucocytes, leur activité, leur résistance propre, sinon leur quantité ;

3° Par la quantité de sérum employée.

II. — La vitesse de réaction de l'opsonisation dépend essentiellement de la richesse en opsonine du sérum examiné : et cette action se fait surtout sentir au *début* de la réaction : d'où la nécessité de comparer les sérums au début de l'expérience.

Cette vitesse de réaction dépend, elle aussi, de la quantité de sérum mise en jeu, de la concentration de l'émulsion, etc... ; il est possible enfin de supposer l'influence exercée sur cette vitesse de réaction par d'autres facteurs dont nous nous contenterons d'étudier l'influence, sur le mécanisme seul de l'opsonisation.

II. — Autres facteurs intervenant dans le mécanisme de l'opsonisation

Influence des modifications de température

1° Rôle du froid

Nous nous sommes servi dans toute cette série d'expériences sur le rôle du *froid* du sérum non dilué d'un typhique dont le pouvoir opsonique, en quinze minutes à la température de 37 degrés, était 11.

N° 1. Leuc. + bac. Eberth + sérum 15′ à 37° = 11.

Le même mélange exposé quinze minutes à 0 degré donna un pouvoir opsonique de 0,16.

N° 2. Leuc. + bac. d'Eberth + sérum 15′ à 0° = 0,16

On connait depuis longtemps cette action inhibitrice du froid sur la phagocytose, ce qui permet de comprendre la pathogénie de certaines affections dites *a frigore*.

Néanmoins même à 0 degré, l'opsonine exerce son action sur les microbes, les sensibilise, ce qui la différencie assez nettement du complément, qui agit infiniment peu à 0 degré : En effet des bacilles traités à 0 degré par un sérum opsonisant sont suffisamment impressionnés par l'opsonine, puisque, mis ensuite dans les conditions ordinaires en contact avec des polynucléaires, ils sont très électivement phagocytés. Cette action du froid n'intervient donc pas sur l'opsonine même, mais seulement sur le phagocyte qu'elle paralyse.

Le tableau suivant résume les autres résultats obtenus :

	Pouvoir phagocytaire
A 0 degré	0,16
10 »	4
20 »	5
30 »	9
37 »	11
38 »	11,50
40 »	12 (?)

(les polynucléaires sont difficilement étalés, se fragmentent dans cette dernière expérience.)

Une partie de l'émulsion servant à cette expérience fut congeée par un froid de — 13 degrés.

Puis on laissa se fondre le bloc de glace obtenu et on recommença l'expérience d'opsonisation, en se servant cette fois de l'émulsion congelée, puis décongelée.

N° 3. Leuc. + bac. d'Eberth soumis au froid + sérum 15′ à 37° = 14,50

Dans l'expérience de même nature n° 1 le résultat obtenu avait été 11. Notre expérience n° 3 indique une augmentation du pouvoir opsonique du sérum, qui ne peut être due qu'à l'atténuation par la congélation des germes employés.

On rechercha également alors le rôle de la congélation sur ce même sérum.

Le sérum fut exposé pendant une heure à —13 degrés, puis décongelé.

On répéta alors la même expérience (n° 1), mais en se servant du sérum congelé, puis décongelé.

Voici le résultat :

N° 4. Leuc. + bac. d'Eberth + sérum congelé 15′ à 37° = 10,50

Dans l'expérience n° 1 le résultat obtenu avait été 11. La congélation du sérum n'a donc pas modifié la teneur de ce sérum en opsonine.

En résumé on peut conclure :

1° La phagocytose ne se produit pas à 0 degré, mais à 0 degré l'opsonine se fixe néanmoins sur les bacilles ;

2° La phagocytose se produit électivement aux environs de 38 degrés ;

3° La congélation atténue un peu la virulence des germes ;

4° La congélation ne modifie pas la teneur d'un sérum en opsonine.

2° Rôle de la chaleur

Cette catégorie d'expériences est capitale : de la perte de certaines propriétés du sérum après un chauffage à 56° et de la conservation de certaines autres propriétés après ce chauffage on a conclu à l'existence, dans certains sérums non chauffés, de deux substances : l'alexine et la sensibilisatrice ; lorsqu'on chauffe ce sérum à 55 l'une de ces deux substances, l'alexine, disparaît.

D'où l'intérêt théorique considérable attaché à cette recherche en ce qui concerne les opsonines : l'influence de la chaleur sur les opsonines permettra d'apprécier si ces substances se comportent comme des alexines ou des sensibilisatrices.

Il semblerait que de telles recherches ne puissent susciter de discussions, en réalité il n'en est rien, et la question de savoir si l'opsonine est ou n'est pas détruite par le chauffage à 56-58 pendant quinze minutes n'est pas définitivement établie.

Pour Wright, Bülloch et Atkin, il n'y a pas de doute, les opsonines sont détruites par le chauffage. Celles qui ne sont pas détruites après le chauffage le sont facilement, si l'on a la précaution de diluer le sérum et de chauffer à nouveau, à 60.

Pour Muir et Martin, Neufeld et Hühne, Becher et surtout Levaditi et Inmann, la question est plus complexe.

Il faudrait distinguer deux catégories d'opsonines ;

Tout d'abord celles existant normalement dans le sérum d'individus normaux ; pour celles-là il n'y aurait pas de doute ; un chauffage à 56-58, les détruit totalement.

Il n'en serait pas de même pour celles existant dans le sérum des individus immunisés, en d'autres termes dans celles des « immunsérums » : celles-ci ne seraient pas détruites par la chaleur ; ainsi exprimé le fait n'est pas tout à fait exact. D'ailleurs Levaditi dit lui-même que ces opsonines sont *relativement thermostabiles,* et que l'on peut réactiver un sérum ainsi chauffé, en lui ajoutant une trace de sérum normal dilué.

D'après Wright et Dean cette prétendue opsonine thermostabile ne serait qu'un résidu de l'opsonine totale échappé à la destruction, la stabilité thermique de l'opsonine dite spécifique étant elle-même relative et n'existant plus lorsqu'on poursuit le chauffage en solution étendue ; quant à la résistance plus grande de l'opsonine dans les immunsérums spécifiques elle tiendrait uniquement à sa force ou, si l'on préfère, à son abondance. Il n'y aurait là qu'une question de dose, de quantité et non de qualité.

Dans un travail plus récent, Dean (*The British Med. Associat.*, 5 sept. 1907) conclut que les opsonines sont constituées par deux corps agissant ensemble : l'un thermostabile, de même nature que la sensibilisatrice, l'autre thermolabile, analogue à la cytase, ce dernier surtout abondant dans le sérum normal.

MM. Cowie et Chapin (*Journ. of Med. Res.*, t. XVII, oct. 1907, p. 57-76), pensent aussi que les opsonines sont constituées par une substance thermostabile limitée, et par une substance thermolabile très abondante, dont l'action combinée permettrait la phagocytose.

Hektoen et Ruediger admettent que l'opsonine est constituée par un groupement actif thermolabile (groupe opsonophore) et un groupement de fixation thermostabile.

Pour édifier leurs expériences Hektoen et Ruediger ont laissé agir sur des streptocoques un sérum normal, puis ils ont chauffé à 58 degrés pendant un quart d'heure les microbes ainsi pré-

parés. Ils constatent que ces microbes ne sont plus englobés par des leucocytes, même si on les « sensibilise » de nouveau en ajoutant du sérum normal frais. Ils interprètent cette observation en supposant l'existence de deux groupements dans l'opsonine, dont l'un (le groupement haptophore), capable de se fixer sur les microbes, résiste au chauffage, cependant que l'autre (le groupement « opsoniphore ») est détruit à la température de 55 à 58 degrés. Le groupement haptophore dans ce cas empêcherait la fixation d'autres molécules d'opsonine.

Bulloch et Atkin ont fait des expériences analogues avec le staphylocoque. Ils constatent qu'on peut chauffer ce microbe, préalablement sensibilisé par le sérum normal, à une température de 60 degrés pendant des heures, sans qu'il cesse de pouvoir être englobé. Par conséquent, ces auteurs attribuent à l' « opsonine » une « constitution simple ».

En disposant des expériences analogues avec le streptocoque et le *Bacterium coli*, Lœhlein (*Ann. de l'Institut Pasteur*, 1906) a relevé l'existence d'une source d'erreurs très importante, dans le dispositif des expériences précitées. La voici : Les microbes traités avec le sérum, puis chauffés à 58 degrés, ne se colorent que d'une manière très faible et peu distincte. Le *Bacterium coli* surtout ne prend plus guère le bleu d'azur. Il devient donc très difficile de juger ainsi, à l'aide de préparations colorées, l'intensité de la phagocytose.

Lœhlein adopte contrairement à Bulloch et Atkin les conclusions de Hektoen et Ruediger « l'opsonine est constituée de deux groupements, l'un haptophore, thermostabile, qui se fixe sur les microbes, l'autre opsoniphore thermolabile ».

D'ailleurs des recherches récentes de Ehrlich, Jacks, etc., ont démontré qu'il existe des ambocepteurs thermolabiles et des compléments thermostabiles.

Enfin, pour certains auteurs, le chauffage exercerait sur le sérum une action encore plus complexe que toutes celles envisagées jusqu'ici.

Pour Victor Henri, le chauffage produirait dans le sérum des modifications physiques et chimiques (viscosité, opalescence) qui ne sont pas sans retentir considérablement sur les propriétés des colloïdes du sérum. Dans le sérum chauffé les colloïdes se

trouvent dans un état de stabilité inférieure à celui du sérum normal ; ce simple changement de l'état physique des colloïdes, permet de comprendre les différences constatées entre le sérum normal et le sérum chauffé. A l'aide de ses nouvelles conceptions M. V. Henri établit une théorie particulière de l'immunité (*Sem. Médicale*, 1907).

Plus récemment encore (*Sem. Médicale*, 24 juin 1908, p. 301), M. le professeur Hans Sachs revient sur les modifications produites par le chauffage, sur le sérum, surtout lorsqu'il s'agit de dilutions ; il émet l'idée que les variations de la teneur en alcalinité ou en acidité ainsi imprimées au sérum peuvent suffire à altérer certaines substances albuminoïdes (*lipoïdes*), auxquelles reviendrait peut-être le rôle primordial, dans les modifications constatées dans les sérums.

De toutes ces discussions découle ce fait : difficulté considérable d'interpréter ce phénomène physique simple, disparition ou conservation de l'opsonine par le chauffage du sérum à 55 degrés.

Nous avons fait appel nous-même à l'expérimentation pour essayer de nous faire une opinion. Voici rapportées les variations, avant et après chauffage à 56 degrés, du pouvoir opsonique du sérum de chevaux immunisés, par M. Chantemesse, pour obtenir le sérum antityphique.

Première expérience, faite sur le sérum des chevaux, un mois après l'injection immunisante.

	Pouvoir opsonique du sérum avant chauffage	Pouvoir opsonique après 20 minutes de chauffage à 56 degrés	Pouvoir opsonique de ce sérum chauffé, réactivé avec une trace de sérum dilué de cheval normal.
	—	—	—
Donato....	6,90	0,57	0,80
Perrette ...	3,50	0,47	0,70
Cheval n° 6.	1,30	0,34	n'a pas été fait.
Cheval n° 7.	1,20	0,30	*id*

Deuxième expérience, faite sur ces sérums six jours après une nouvelle injection immunisante. (Les chiffres des deux expériences, bien qu'il s'agisse de pouvoir opsonique, sont compara-

tifs, car un sérum normal dans les deux cas possédait à peu près le même pouvoir phagocytaire.)

Donato....	9	1,58	2
Perrette...	5.50	1,40	1,80

Dans cette deuxième expérience, on constate la présence d'une plus grande quantité d'opsonine thermostabile, bien que le chauffage ait été effectué dans les mêmes conditions que pour l'expérience précédente.

D'ailleurs l'existence de cette opsonine thermostabile spécifique est encore prouvée par la constatation d'un pouvoir opsonique de 1,90, dans le sérum antityphique de M. Chantemesse, sérum chauffé plusieurs fois à 60 degrés. Dans les mêmes conditions un sérum de cheval normal perd après le chauffage à peu près toutes ses propriétés opsonisantes. — 0,10, 0,05.

Mêmes constatations, si nous expérimentons sur le sérum de typhiques, au début de leur convalescence.

	Pouvoir opsonique du sérum vis-à-vis le bac. d'Eberth avant le chauffage	Pouvoir opsonique après 20 minutes de chauffage à 55°	Pouvoir opsonique du sérum chauffé, réactivé avec une trace de sérum normal dilué
	—	—	—
Premier malade	5,20	0,49	0.91
Deuxième malade	6,70	1,30	1,80
Troisième malade	3,40	0,80	1,10

Par contre, le sérum d'un individu normal, perd rapidement ses propriétés opsonisantes, et n'est pas réactivé par une trace de sérum normal dilué.

Il ne s'agit pas là uniquement d'une question de richesse plus ou moins considérable en opsonines du sérum examiné ; en effet il suffit de quelques minutes de chauffage à 55 degrés pour débarrasser entièrement de ses opsonines un sérum normal, tandis qu'un chauffage très prolongé et même répété ne les détruit pas entièrement dans un immunsérum (voir expériences 1 et 2 faites sur les sérums de chevaux immunisés). D'où notre première conclusion analogue à celle de Levaditi, l'opsonine du sérum normal est franchement thermolabile.

Nous n'irons pas jusqu'à dire avec lui que celle des immunsérums est thermostabile, ni suivant son expression, « relative-

ment thermostabile » ; nous nous croyons toutefois en droit d'avancer les deux faits suivants : 1° la réactivation obtenue avec le sérum normal existe, bien que modérée ; 2° avec Hektoen et Ruediger, Lœhlein, nous admettons que les opsonines des immunsérums nous paraissent comprendre deux groupements un, le plus important, thermolabile, et un second, thermostabile.

Reste à savoir si cette thermostabilité, comme le voudrait Wright, disparaîtrait, si l'on diluait le sérum et si l'on chauffait à nouveau. Par la dilution entre en jeu, nous allons le voir, un nouveau facteur qui peut modifier la stabilité des opsonines ; mais néanmoins, ces sérums spécifiques, encore opsonisants après chauffage, demandent pour être entièrement dépouillés de leurs opsonines, une dilution si considérable et un chauffage si prolongé, que nous croyons pouvoir admettre cette thermostabilité d'une partie des opsonines dans les *sérums* très hautement en état d'immunité.

Signalons que le sérum antidiphtérique ne contient aucune opsonine vis-à-vis le bacille d'Eberth, et se comporte comme un sérum normal chauffé.

3° Influence de la dilution sur les immunsérums et le sérum normal

Dilutions faibles

	Sérum total	9 gouttes sérum 1 goutte eau physiologique	8 gouttes sérum 2 gouttes eau physiologique	7 gouttes sérum 3 gouttes eau physiologique	6 gouttes sérum 4 gouttes eau physiologique	5 gouttes sérum 5 gouttes eau physiologique	4 gouttes sérum 6 gouttes eau physiologique	3 gouttes sérum 7 gouttes eau physiologique	2 gouttes sérum 8 gouttes eau physiologique	1 goutte sérum 9 gouttes eau physiologique	1 goutte de ce mélange dans 40 gouttes eau physiologique
Sérum de typhique.....	5,08		4,40		4				3		1,60
Sérum de typhique.....	7		5,60		4,52				4		2,50
Sérum de typhique.....	3,88	3,33		2,98		2,60		2,49		2,11	
Sérum de typhique.....	3,58	3,54	3,50		3,02		2,82			2	0,90
Sérum de typhique.....	2	1,60	1,42		1,18		1,03			0,80	
Sérum normal	1,10	0,90		0,60					0,40		0,20
Sérum normal	1	0,70		0,15						inappréciable	0,15
Sérum normal	0,90			0,70					0,60		0,20
Sérum norm.	1,09		0,87		0,77		0,75			0,40	

Dilutions fortes

	Sérum seul	1/10	1/20	1/30	1/50
Sérum normal.....	1,10	0,50	0,27	0,20	0,15
Sérum de typhique....	1,90	1,10	0,75	0,70	0,40

Les résultats obtenus avec les dilutions au $\frac{1}{50}$, au $\frac{1}{100}$ ne nous paraissent pas dépendre des opsonines, mais relever des phénomènes de phagocytose spontanée, sur lesquels nous avons déjà insisté.

Il résulte de ces expériences :

1° D'une manière générale les opsonines baissent rapidement de valeur au début de la dilution dans les immunsérums, puis très lentement au cours de la dilution ; leur présence est constatée même dans les dilutions très faibles et d'une manière assez constante.

2° Il n'en est plus de même dans le sérum normal ; parfois le pouvoir opsonique disparaît rapidement, parfois au contraire il peut être constaté jusque dans les dilutions au $\frac{1}{10}$, au $\frac{1}{50}$

Mêmes constatations signalées par Charles-E. Simon. Dans des dilutions au $\frac{1}{20}$ et au $\frac{1}{40}$ d'un même sérum, la phagocytose se fait d'une manière à peu près identique, tandis que dans d'autres cas, on n'observe aucune phagocytose dans la dilution au $\frac{1}{20}$ et une très forte au contraire au $\frac{1}{40}$.

La dilution ne s'accompagne donc pas d'une diminution progressive des opsonines, comme s'il s'agissait d'un phénomène purement physique ou chimique. Le phénomène est plus complexe et est loin d'être parfaitement expliqué. C'est pourquoi, jugeant que les sérums se comportaient tous différemment au cours des dilutions, ce qui rendait leur comparaison moins rigoureusement scientifique, nous avons rarement employé ces dilutions au cours de nos expériences, préférant plutôt, pour

éviter les phagocytoses trop riches, diluer la concentration de l'émulsion microbienne.

Mélanges de plusieurs sérums

Le mélange de deux sérums agit parfois d'une manière un peu déconcertante sur les opsonines ; en tous cas il est difficile d'interpréter aisément certains résultats obtenus.

Citons à ce sujet les deux expériences suivantes de Simon.

Le sérum d'un cochon, dilué au $\frac{1}{100}$, ne présente presque aucune opsonine pour le staphylocoque.

Le sérum d'un individu normal en dilution au $\frac{1}{20}$ vis-à-vis de ce même staphylocoque avait un pouvoir de 50 (voir technique de Simon). Le sérum de ce même individu dilué dans la proportion de $\frac{1}{20}$ avec la dilution au $\frac{1}{100}$ de sérum inactif de cochon, donna un pouvoir de 80.

La deuxième expérience est la suivante :

Un sérum de lapin ne présentait presque aucune phagocytose à $\frac{1}{20}$ et très légère à $\frac{1}{10}$.

Le sérum d'un cochon à $\frac{1}{10} = 10$, à $\frac{1}{100} = 0$. Le sérum de lapin dilué à $\frac{1}{10}$ fut mélangé avec la solution au $\frac{1}{100}$ du sérum du cochon.

Le pouvoir phagocytaire de ce mélange devint pour des raisons qui nous échappent 47.

Nous avons pu nous-mêmes observer le fait suivant : nous possédions trois sérums dont voici l'indice vis-à-vis le bacille d'Eberth :

Sérum de lapin (inoculé d'Eberth).....	2,70
Sérum de cobaye (neuf).....	1,50
Sérum homme normal.....	1,05

Ces 3 sérums furent mélangés dans les proportions suivantes :

Sérum lapin	6 gouttes
Sérum cobaye.....	3 gouttes
Sérum homme.....	6 gouttes

L'indice opsonique du mélange total fut 6,80.

Il est vrai que nous avons recommencé en vain plusieurs fois cette expérience. Peut-être les opsonines de l'immun sérum, ont-elles été réactivées en ce cas par les opsonines des deux sérums neufs.

Mélange de sérum normal et de sérum de typhique

Pouvoir opsonique	Sérum normal.....	1,10
	Sérum typhique....	3,20

Le mélange de 9 gouttes de ce sérum normal plus 1 goutte de ce sérum de typhique eut un pouvoir opsonique de 1,90.

Le mélange de 8 gouttes de sérum normal et 2 gouttes de sérum de typhique, 2,39.

Le mélange de 6 gouttes de sérum normal et 4 gouttes de sérum de typhique, 2,76.

Le mélange de 2 gouttes de sérum normal et 8 gouttes de sérum de typhique, 3,02.

Dans ce cas on assiste à une augmentation progressive du pouvoir opsonique, proportionnellement aux quantités de sérum mélangées.

Rappelons à ce propos les lois énoncées par V. Henri au sujet du mélange de deux sérums en ce qui concerne le pouvoir hémolytique :

1° L'hémolyse produite par le mélange de deux sérums est plus forte que la somme des hémolyses de chacun séparément ; cette augmentation d'activité hémolytique dépend de leurs proportions relatives : la loi de cette augmentation doit être rapprochée des lois d'action des colloïdes les uns sur les autres ;

2° Un sérum non hémolytique vis-à-vis de certains globules peut empêcher l'hémolyse de ces globules par un autre sérum.

Peut-être dans cette deuxième loi pouvons-nous trouver une apparence d'explication aux expériences ci-dessus relatées et dont l'interprétation nous a paru si difficile.

5° Influence de certaines substances sur le mécanisme de l'opsonisation

Hektoen et Ruediger ont étudié l'influence de solutions de plusieurs sels et de la formaldéhyde sur l'englobement des microbes et ils ont constaté le fait que la phagocytose s'opère d'une façon moins intense si l'on fait agir préalablement sur les microbes un mélange de quantités moléculaires égales des solutions de sels tels que $CuCl^2$, $[Na^3C^6H^5O^7]$ etc... En variant les conditions de leurs expériences, Hektoen et Ruediger montrent qu'il ne s'agit pas d'une influence quelconque empêchante sur les leucocytes, mais d'une sorte de neutralisation de la substance sensibilisante.

Nous avons étudié l'action de certaines substances sur ce pouvoir phagocytaire. Signalons tout d'abord l'action neutralisante du chlorure de sodium à une certaine concentration. Dès que la concentration s'élève notablement, le pouvoir opsonique diminue. *Peut-être pourrait-on déduire de cette notion quelques particularités sur les variations du pouvoir opsonique au cours de certaines affections fébriles, avec rétention* manifeste des chlorures.

Si l'on traite le sérum à étudier par des solutions de citrate de soude ou des sels d'oxalate d'ammoniaque à dose suffisante pour empêcher la coagulation du sang, on constate une réduction considérable du pouvoir opsonique de ce sérum ; d'où la nécessité d'un lavage soigneux dans l'eau physiologique, des globules traités par le mélange d'eau physiologique et de citrate de soude.

Quelle est la nature de cette action neutralisante ? On est en droit de se demander si cette diminution du pouvoir opsonique n'est pas due à la précipitation des sels de calcium, le fluorure de sodium qui précipite aussi les sels de calcium, diminuant également le pouvoir opsonique d'un sérum.

Si l'on restitue à un tel sérum une partie de ses sels de calcium, on lui permet de récupérer une grande partie de ses propriétés opsoniques.

Si l'on augmente la teneur en sel de Ca d'un sérum quelconque, on augmente également un peu ses propriétés opsoniques.

Il résulte de ces expériences deux particularités à notre avis passées sous silence : importance de la teneur en NaCl d'un sérum sur son pouvoir opsonique, importance des sels de calcium sur l'opsonisation.

Nous allons voir que d'autres facteurs peuvent encore venir influencer l'opsonisation, qui nous apparaît comme un phénomène très complexe, analogue aux actions diastasiques dépendant de multiples facteurs (rôle de certains électrolytes, état de stabilité des colloïdes, etc...).

Les données récentes de la physiologie n'ont-elles pas montré combien plus complexe qu'on ne l'avait imaginé au début était le mode d'action des ferments digestifs. Aux ferments autrefois décrits, dont le mode d'action était simple à concevoir, sont venus se surajouter la kinase, l'entéro-kinase, la sécrétine, l'érepsine, l'activation du suc pancréatique par les sels de calcium, etc., dont l'action se fait directement sentir et sur la sécrétion et sur l'activité du ferment digestif, et sur son mode d'intervention même au cours de la digestion.

N'est-ce pas un peu ce que nous observons à propos des opsonines ?

Et est-ce à dire qu'en raison de cette complexité il faille rejeter et l'hypothèse de l'existence des opsonines et la méthode de l'opsonisation ?

Notre conviction est la suivante : cette méthode d'examen des sérums a séduit dès les premières recherches, à cause de son apparente simplicité. Le malheur est précisément qu'elle n'est simple qu'en apparence. Comme pour tout acte biologique, il n'y a pas qu'un seul élément à envisager, mais au contraire tout une série de réactions. Il faut connaître et prévoir toutes ces causes de variation, mais de ce qu'elles existent il ne faut pas pour cela considérer le phénomène comme n'ayant aucune valeur : de ce que les expériences sur les ferments digestifs peuvent être elles aussi entachées parfois d'erreur, s'ensuit-il que ces recherches n'aient donné aucun renseignement utile ? Loin de là.

La conclusion qui paraît s'imposer est : être prudent, se garder de conclusions trop hâtives, et ne pas demander à la méthode une rigueur absolue qu'elle ne peut pas donner.

Nous avons groupé ci-dessous toute une série d'expériences

relatives à cette influence de certaines substances sur le mécanisme de l'opsonisation : dans toutes ces expériences nous nous sommes servi du même sérum de typhique dont le pouvoir opsonique pour le bacille d'Eberth était 2,90, et nous avons toujours opéré sur un mélange final de 13 gouttes.

Sérum de typhique	Substances ajoutées	Pouvoir opsonique
—	—	2,90
10 gouttes	plus 3 gouttes eau physiologique.....	2.50
—	3 gouttes solution NaFl neutre à 1 0/0.	0,55
—	3 gouttes oxalate d'ammoniaque à 10 0/0.	0,80
—	3 gouttes citrate de soude à 1 0/0.....	0,90
—	2 gouttes eau physiologique plus 1 goutte *eau de chaux*.....	*2,60*
—	3 gouttes *eau de chaux*.....	*3*
—	2 gouttes eau physiologique plus 1 goutte collargol à 1 0/0.....	1,90
—	2 gouttes eau physiologique plus 1 goutte chloroforme.....	*0,04*

Si l'on se contente d'ajouter des traces de collargol, d'électrargol, de mercure colloïdal, au sérum, il n'y a pas de modifications du pouvoir opsonique *in vitro*.

In vivo, nous avons pu constater quelquefois, au contraire une légère augmentation de la quantité d'opsonine à la suite d'injections intraveineuses de ces substances.

Par contre, il suffit de traces de chloroforme pour modifier le pouvoir opsonique dans des proportions sensibles (1) : peut-être s'agit-il d'action directement paralysante sur le leucocyte et non sur l'opsonine, comme nous l'avons déjà constaté pour le froid. (Cette remarque pourrait d'ailleurs s'appliquer à toutes ces expériences : ce n'est au fond pas l'opsonine qui est modifiée, c'est le mécanisme de l'opsonisation.)

L'alcool, les antiseptiques, exercent également une action inhi-

---

1. On constate *in vivo* quelquefois cette diminution du pouvoir opsonique pendant le sommeil chloroformique.

Il serait intéressant de vérifier en série cette action : chez l'animal elle paraît durer assez longtemps, chez l'homme elle paraît cesser au bout de cinq à six heures après l'anesthésie.

bitrice, peut-être par un mécanisme complexe portant à la fois sur le leucocyte, le bacille, et peut-être, dans certains cas, l'opsonine.

6° Influence de l'alcalinité ou de l'acidité du sérum sur l'opsonisation

Cette double influence de l'alcalinité ou de l'acidité du sérum a été étudiée surtout par L. Opie (1) et Hideyo Noguchi (2).

Voici sur ce sujet les conclusions de ce dernier auteur (traduction personnelle) :

« 1° Les opsonines présentent leur action maximum dans un milieu de réaction neutre ;

2° Il n'y a plus aucune opsonisation dans un sérum qui contient une quantité d'alcali correspondant à plus de 1 cmc. 6 de solution $\frac{1}{20}$N, ou une quantité d'acide supérieure à 0 cmc 5 de la même concentration pour 1 centimètre cube de sérum ;

3° Le dosage d'alcalinité recherché sur plusieurs sérums normaux (au papier de tournesol) a donné comme moyenne 0cmc.8 à $\frac{1}{20}$N ;

4° L'indice opsonique trouvé dans le sérum « natif » n'est pas l'expression du chiffre total des opsonines ; cette valeur totale n'est obtenue que si on opère en milieu neutre et dilué.

Tous les sérums ont leur puissance opsonique augmentée par la diminution de leur alcalinité native.

Les opsonines dont l'activité est suspendue par une réaction défavorable, deviennent immédiatement actives dès que la réaction est ramenée au point neutre, à moins que l'alcali ou l'acide employé approche comme valeur 1 N, ce qui produit alors une altération durable et permanente.

Que faut-il penser de ces conclusions ? Tout d'abord au point de vue clinique, nous ne croyons pas que le sérum des malades

1. L. Opie. « Opsonins of inflammatory exudates. » *Journ. of exp. Medicine*, t. IX, 17 juillet 1907, p. 455 et 21 septembre, p. 487 et 515.

2. Hideyo Noguchi. « On the influence of the reaction and of desiccation upon opsonines. » *Journ. of exp. Medicine*, vol. IX, n° 4, 1907.

présente des variations d'acidité ou d'alcalinité susceptibles d'expliquer les diverses variations observées dans le pouvoir opsonique.

Ces constatations permettent tout au plus de comprendre peut-être, la *limitation* de valeur de l'indice opsonique signalée au cours de certaines affections ou inoculations. Cette limitation tiendrait précisément à ce que tout l'effet utile de l'opsonine existante *réellement*, ne se produirait pas, dans un sérum où les conditions d'optimum signalées, neutralisation et dilution, ne seraient pas réalisées, d'où pour Noguchi la nécessité de faire l'estimation du pouvoir opsonique d'un sérum : 1° en réaction neutre ; 2° en dilution.

Noguchi a recherché également si dans les cas de réaction défavorable (acidité ou alcalinité excessive) des bactéries pouvaient être quand même opsonisées. Si l'on met en suspension des bactéries dans un tel sérum et si, après les avoir lavées et centrifugées on les mélange avec des leucocytes, on ne constate aucune phagocytose. Dans ces conditions, les opsonines ne s'attachent donc pas aux bactéries.

Un phénomène analogue a été signalé par Hektoën et Ruediger dans le cas de certains sels neutres anti-opsoniques : en cette circonstance, les opsonines diffèrent de la plupart des ambocepteurs bactériolytiques et hémolytiques, ce qui les rapproche des compléments, bien qu'elles les dépassent en sensibilité.

Enfin, l'inhibition des opsonines par un certain excès d'alcali ou d'acide est une réaction *réversible*. Si l'excès d'alcali ou d'acide est enlevé par neutralisation, les opsonines redeviennent actives. Cette propriété les rapproche des compléments : une différence cependant à signaler, les opsonines sont plus actives dans les milieux neutres ; les compléments plus actifs dans les milieux alcalins. Enfin l'auteur a vérifié ses expériences avec toute une série d'acides (chlorhydrique, nitrique, sulfurique, formique, acétique, lactique, butyrique, citrique, tartrique, oxalique, etc.), et est arrivé toujours à peu près aux mêmes résultats.

Nous avons répété un grand nombre de ces expériences, mais nous avons tenu surtout à les répéter sur des sérums non dilués, ou très peu dilués, pour que ces notions puissent s'appliquer à

la méthode employée le plus souvent par nous (sérum non dilué).

Un fait dominait d'abord toutes ces recherches : les sérums des malades présentent-ils de grandes variations dans la teneur en alcalinité, en acidité ?

Entre des sérums extrêmement dissemblables comme pouvoir opsonique vis-à-vis le bacille d'Eberth (1,90 — 4 — 5 etc...), il n'existe que des différences très minimes d'alcalinité (0,8 — 0,75 — 0,7), insuffisantes pour expliquer les variations de ce pouvoir opsonique, d'autant plus que c'est, ou le sérum le moins alcalin qui est le plus riche en opsonines, ou *vice versa*.

Quoi qu'il en soit, on peut admettre que le sérum correspond en alcali à environ 0 cmc. 7,5 ou 8 d'une solution au $\frac{1}{20}$ N, en opérant sur 1 centimètre cube de sérum.

Pour éviter les dilutions, au lieu d'employer une solution au $\frac{1}{20}$ N pour alcaliniser ou acidifier le sérum, nous nous sommes servi d'une solution dont 1 goutte correspond à 8 gouttes de la solution au $\frac{1}{20}$ N. Ces solutions étaient ainsi obtenues.

Solution A :

60 gouttes eau distillée.
40 gouttes solution N de SO^4H^2

Solution B :

Idem avec solution N alcaline.

Ces solutions A et B nous ont servi pour neutraliser, acidifier, alcaliniser nos sérums dans des proportions définies.

En ce qui concerne le sérum d'individus normaux, nous avons trouvé à peu près les mêmes résultats que ceux indiqués par Noguchi. Il n'en n'est plus de même en ce qui concerne les immunsérums ; c'est ce que résume l'expérience suivante :

Nous nous sommes servi du sérum d'un convalescent dont la réaction alcaline était égale à 0 cmc. 8 de la solution au $\frac{1}{20}$ N.

10 gouttes de ce sérum additionnées de 6 gouttes d'eau physiologique pour obtenir un volume total de 16 gouttes avaient un *pouvoir opsonique* de 5.

10 gouttes de ce sérum *neutralisées* par 1 goutte de la solution A, ramenées au volume total de 16 gouttes eurent un *pouvoir opsonique* de *4,40*.

10 gouttes acidifiées = 0,8 d'acide à $\frac{1}{20}$ N, par 2 gouttes solution A et ramenées à 16 gouttes eurent un *pouvoir opsonique* de *3,74*.

10 gouttes + 3 gouttes, solution A ramenées à 16 gouttes = 1 cmc. 6 d'acide à $\frac{1}{20}$ N, eurent un *pouvoir opsonique* de 1.

10 gouttes + 3 gouttes solution A + 2 gouttes solution B = *neutre, pouvoir opsonique 3,50.*

C'est là le phénomène réversible.

10 gouttes + 4 gouttes solution A = 2 cmc. 4 *d'acidité* à $\frac{1}{20}$ N : *pouvoir opsonique O*, il n'y a pas eu de réactivation en ramenant à la réaction neutre.

10 gouttes + 1 goutte solution B, ramenées à 16 gouttes. = alcali 1 cmc. 6 de $\frac{1}{20}$ N : *pouvoir opsonique* 3,20.

10 gouttes + 2 gouttes solution B, ramenées à 16 gouttes = alcali 2 cmc. 4 d'alcali à $\frac{1}{20}$ N = *pouvoir opsonique* 1.

Les conclusions qui paraissent se dégager de cette expérience sont les suivantes :

1° La neutralisation n'a pas produit le maximum d'opsonisation, qui s'est trouvé constaté dans le sérum natif ;

2° La réactivation des opsonines après acidification puis neutralisation, s'est en partie vérifiée, mais l'opsonine n'a pas été récupérée en totalité ;

3° Les limites d'acidité et d'alcalinité, susceptibles d'empêcher toute action opsonisante, ont été singulièrement reculées.

Nous retrouvons là à propos des immunsérums tous les problèmes soulevés à propos du chauffage des opsonines. N'est-ce qu'une question de degré, de quantité, ou de nature particulière? Nous nous contentons de signaler le fait.

S'il était établi que la teneur en alcali du sang soit sujette à des variations considérables, il s'en suivrait que les variations du pouvoir opsonique des sérums ne seraient peut-être qu'une variation de leur réaction.

Or, ces variations sont très minimes et insuffisantes pour influencer d'une manière appréciable les opsonines.

D'ailleurs et c'est par là que nous terminerons cette longue discussion sur l'influence de l'alcalinité et de l'acidité, on ne sait pas au juste ce qu'est la réaction du sang.

Dans une étude très documentée, M. Cheinisse (1) montre combien cette prétendue alcalinité du sang est sujette à caution, et son dosage illusoire. Il conclut même avec Drouin (2), en se basant sur les nouvelles méthodes de la chimie physique (théorie des ions), que contrairement à l'opinion classique, le sang présente une réaction neutre.

Ces conclusions sont conformes à celles de Foa (3), Hœber (4), Poupkine (5), Benedickt (6).

b) Influence de la dessication sur les opsonines

La puissance opsonique d'un sérum desséché par un courant d'air à 23 degrés centigrades n'est pas réduite d'une manière notable. Ces sérums ainsi desséchés conservent longtemps leur pouvoir opsonique (Noguchi).

Action des hautes températures à l'état sec. — Même soumis à la température de 100 degrés, les sérums desséchés conservent une grande partie de leur pouvoir opsonique (si l'on chauffe au-dessus de 120 degrés, le sérum sec ne se redissoud pas ensuite dans l'eau physiologique ; pour rechercher dans ce cas le pouvoir opsonique, il faut réduire en poudre le résidu sec et l'émulsionner dans l'eau salée à 9 0/00).

Il faut signaler aussi que les sérums secs regagnent leur thermolabilité par une simple solubilisation : cette résistance des opsonines à l'état sec aux hautes températures les rapproche des propriétés caractéristiques des ferments, mais aussi des compléments.

---

1. Cheinisse. « Que faut-il entendre par alcalinité du sang ? » *Sem. méd.*, février 1908, p. 85.
2. Drouin. Th. de Paris, 1892.
3. Foa. Soc. biol., 1905.
4. Hœber. *Arch. f. d. ges. physiol.*, 1906.
5. Poupkine. Thèse Saint-Pétersbourg, 1904.
6. Benedickt. *Arch. f. die gesamt.physiol.*, 1906.

CONCLUSION DES RECHERCHES PHYSICO-CHIMIQUES

Nous n'avons pas la prétention d'avoir épuisé la liste de tous les facteurs susceptibles de venir modifier le pouvoir opsonique d'un sérum, mais nous pensons avoir démontré que pour ce phénomène d'opsonisation, comme pour tout acte physiologique, de multiples facteurs peuvent intervenir. Peu à peu la part qui revient à chacun d'eux se précise, et si le phénomène, à la suite de ces constatations, ne conserve plus sa simplicité schématique, il en acquiert par contre une valeur scientifique plus rigoureuse, ce qui est bien préférable.

C'est ce qui est arrivé dans l'étude des ferments digestifs par suite de l'introduction dans la méthode scientifique des données électrolytiques et de la théorie des ions ; c'est ce qui est arrivé également, pour toutes nos réactions humorales à la suite de la découverte, par l'ultramicroscope, des colloïdes, dont l'étude complète vient d'être faite par M. Stodel (Th. Paris, 1908).

Nous aurons d'ailleurs à revenir sur tous ces faits à propos de l'action des agglutinines, précipitines, etc., sur les opsonines.

A la lueur de ces recherches, le phénomène de l'opsonisation qui paraissait simple d'abord, apparaît plus complexe ; il semblait s'accomplir en dehors de toute influence, et maintenant au contraire, il se montre à nous comme étroitement subordonné à de multiples éléments, comme nécessitant pour se produire une telle association de facteurs, que bon nombre d'auteurs, au nom même de ces constatations, n'hésitent pas à lui dénier toute valeur scientifique.

Alors faudra-t-il abandonner également toutes recherches sur les ferments, parce que la physiologie découvre chaque jour, dans le mode d'action de ces ferments, des facteurs nouveaux qui interviennent, modifiant parfois profondément toutes les réactions ; en d'autres termes, ces progrès de la physiologie doivent-ils nous conduire tout droit au scepticisme expérimental ?

Ce n'est pas notre avis : le tort primordial a été, pour satis-

faire notre esprit avide d'idées claires, de trop simplifier, de trop schématiser. Nos réactions humorales ne peuvent pas être *simples*, elles doivent être complexes et toutes étroitement connexes, puisqu'elles sont des phénomènes *vitaux*. L'on admet la complexité cellulaire de nos tissus, la complexité même de la cellule avec son spongioplasma, son hyaloplasma, etc., et l'esprit a peine à se faire à cette idée du phénomène biologique extrêmement compliqué.

Ce fut un tort également en ce qui concerne les opsonines, d'en faire une application immédiate à la clinique, avant de les avoir étudiées au point de vue physico-chimique et biologique.

Le résultat fut de permettre des conclusions trop catégoriques : aussi lorsqu'on le trouva légèrement en défaut, le procédé ne parut plus bon à rien.

Pour certains auteurs, les opsonines ont une existence indéniable et la méthode opsonique est parfaite, d'autant plus parfaite qu'elle est simple.

Pour d'autres, les opsonines ont une existence plus que problématique et la méthode opsonique est vouée d'avance à l'impuissance, parce qu'entachée d'erreur à sa base.

Si l'on se demande où est la vérité, la réponse est facile : comme toujours en un juste milieu.

Nous restons en face de phénomènes biologiques à apprécier : n'oublions pas que nous ne faisons pas de sciences exactes, de mathématiques, bien qu'il soit question de *pourcentage*, *de rapport*.

Ne donnons pas aux chiffres leur valeur rigoureuse, ils ne sont que des à peu près, traduisant ces phénomènes d'opsonisation.

CHAPITRE IV

Etude biologique des opsonines

Résumé. — **Présence** *des opsonines chez l'homme et chez les animaux ;* **variations** *de la quantité de ces opsonines ;* **nature**, **origine** et **spécificité**.

I. — Étude du pouvoir opsonique du sérum chez l'homme sain et quelques animaux

Ces recherches ont été effectuées par Charles-E. Simon ; d'après cet auteur la quantité d'opsonines contenues dans des sérums provenant d'animaux divers (cochon, lapin, chien, bouc, rat, cheval, chat, mouton, veau, poulet, etc.), envers le staphylocoque est extrêmement variable et diminue quand on descend l'échelle des vertébrés.

Dans une même espèce elle est encore assez variable suivant l'individu, suivant la taille de cet individu, son état de santé et un grand nombre d'autres conditions physiologiques que nous aurons à étudier. Ces recherches sont compliquées, parfois, par certaines propriétées hémolytiques, agglutinantes, du sérum.

Ces mêmes variations se retrouvent dans l'espèce humaine. Une série d'individus en bonne santé, de même âge et de même poids à peu près, ont présenté des variations assez nettes du pouvoir opsonique de leur sérum ; ces variations ont porté sur le pouvoir opsonique, d'abord du sérum non dilué, puis du sérum dilué.

Certains sérums dilués à $\frac{1}{50}$ présentent encore un pouvoir opsonique tandis que d'autres n'ont plus aucun pouvoir au delà d'une dilution au $\frac{1}{30}$.

D'une manière générale, et ce sont là les conclusions auxquelles arrive Ch.-E Simon, le sang humain normal contient moins d'opsonines que celui des animaux. Cependant quelquefois, chez un individu normal, en l'absence de toute infection, on constatera une haute valeur d'opsonine, mais dans ce cas, il s'agira plus volontiers d'individus très solides, en parfaite santé ; par contre, un individu de poids plutôt faible, un peu malingre, aura un sérum moins riche en opsonine.

Nous nous sommes livrés à des recherches analogues sur quelques animaux et sur l'homme.

Nous nous sommes servis et de leucocytes humains et de leucocytes appartenant à l'espèce que nous étions en train d'étudier; nous avons déjà indiqué les réserves à faire au sujet des modifications apportées par la nature des leucocytes employés. Si l'on se sert de leucocytes d'animaux pour étudier le sérum humain, on aura un résultat beaucoup trop faible. Si l'on se sert de leucocytes humains pour étudier le sérum d'animaux, le résultat obtenu sera un peu inférieur à la réalité mais peu ; nous avons employé dans ces recherches le bacille d'Eberth. Les animaux qui nous ont paru posséder à un plus haut degré un pouvoir opsonique envers le bacille d'Eberth sont le bœuf (1,60-1,90), le lapin (1,50–2),le cochon (1,60), le veau (1,10), le cobaye (1,1-10), le mouton (0,90-1,10), le chien (0,90-1,20) ; pour le *cheval*, avec des leucocytes de cheval (0,90-1,40) mais avec des leucocytes humains (0,50 à 0.90). La recherche de ce pouvoir opsonique envers le bacille d'Eberth, chez le cheval normal, avait une grande importance pour nous, à cause des expériences que nous faisions sur le sérum de chevaux injectés en série par M. Chantemesse. Il nous fallait donc bien être fixé sur le pouvoir opsonique du sérum normal du cheval qui nous servirait de contrôle. Ce fut toujours le même cheval qui nous servit, et son pouvoir opsonique fut assez stable aux environs de 0,70.

Ces résultats montrent les variations assez considérables du pouvoir opsonique des animaux, d'abord entre les différentes espèces, puis entre les différents individus de chaque espèce, suivant telles ou telles conditions physiologiques.

Chez l'homme, cette étude présentait pour nous une importance capitale ; il nous importait de connaître le pouvoir

opsonique du sérum d'un individu normal vis-à-vis le bacille d'Eberth, puisque nous voulions justement étudier les variations de ce pouvoir, au cours de la fièvre typhoïde.

Dans ce but, systématiquement, le sérum de plus de 100 individus à peu près normaux a été examiné : le pouvoir opsonique obtenu a varié de 0,80 à 1,30, suivant la concentration de l'émulsion.

De cette constatation nous avons tiré plusieurs conclusions :

1° Faisant un pourcentage des chiffres obtenus avec des concentrations d'émulsion moyenne, nous avons eu 65 fois au-dessous de 0,90, 15 fois 1 et 20 fois au-dessus de 1 ;

2° Nous nous sommes cru en droit, par conséquent, d'étalonner en quelque sorte pour l'avenir nos émulsions à ce chiffre, *c'est-à-dire*, les préparer de telle manière, que le sérum d'un individu normal, *sérum recueilli toujours à la même heure*, n'ait pas un pouvoir opsonique de beaucoup supérieur *à* 1. (Si le chiffre obtenu dépasse 1,30, 1,40, c'est que l'émulsion est trop concentrée et il faut la diluer.)

Ce même chiffre 0,90 a été trouvé par Wright, en ce qui concerne le sérum d'individus *normaux* vis à vis le bacille de Koch.

Mais ce chiffre a t-il une valeur *absolue*, et chez le même individu le retrouverons-nous toujours tel que nous l'aurons trouvé la veille ?

Non, et il importe de bien préciser maintenant les conditions qui peuvent physiologiquement le faire varier, chez un *homme normal*.

a) Influence de la digestion

L'influence de la digestion est très nette dans certains cas : le pouvoir opsonique du sérum est très considérablement augmenté dans l'heure qui suit le repas, puis baisse graduellement pour revenir à son point de départ à peu près au bout de *quatre heures* ; nous avons souvent vérifié ce fait chez les animaux et chez l'homme, et nous n'avons trouvé que peu d'exceptions à cette règle ; l'augmentation de ce pouvoir opsonique nous a paru être directement en rapport avec l'abondance du repas, nous n'avons pas étudié spécialement l'action de tels ou

tels aliments *ou de tel ou tel régime*. Les variations de ce pouvoir s'étendent de 0,20 à 0,60 au maximum (ce qui est beaucoup chez un individu normal dont le pouvoir oscille aux environs de 1, pour le bacille d'Eberth.)

Voici quelques exemples d'individus normaux et typhiques :

Avant le repas	Une heure après le repas
1,51	2,18
1,85	2,10
1,45	1,90
1,61	2
1,60	1,65
1,10	1,50
0,90	1,20

b) Influence du jeûne

Par contre, le jeûne fait disparaître, chez l'animal surtout, et chez ce dernier d'une manière presque totale en quarante-huit heures, les opsonines, dont le retour est extrêmement rapide à la suite de la reprise de l'alimentation.

Néanmoins cette règle n'est pas absolue, et l'on constate au cours d'expériences analogues de nombreux cas négatifs. Chez l'homme, le jeûne modifie également les opsonines. Francis Charteris de Glascow (*Lancet*, 1907), étudiant le pouvoir opsonique d'un jeûneur de profession (durée du jeûne quatre jours, 18 janvier à 21 janvier 1907), n'a pas constaté dans ce cas de modifications. Rankin et A. Martin (1) étudient les effets du jeûne sur le pouvoir opsonique du sang envers le staphylocoque : dans leur observation le jeûne dura neuf jours ; et les recherches faites durant cette période montrèrent un abaissement de 1 à 0,7, puis un retour assez rapide à la moyenne.

Comment expliquer ces variations ? On peut supposer qu'il s'agit de modifications portant sur la constitution *chimique* du

1. *Reprinted from. The Proceedings of the Society for Experim biology and Medicine*, 1907, p. 81-83.

sang (teneur en sel, réaction alcaline ou acide, dilution, concentration, etc.), ou qu'il y ait, au moment de la digestion surproduction d'opsonines mises en circulation par un mécanisme qui nous échappe.

Quelle qu'en soit la raison, si l'on peut discuter chez l'homme l'influence du *jeûne* sur le pouvoir opsonique, il est hors de doute que l'on n'est plus en droit de discuter le rôle de la *digestion*.

D'où la nécessité, dans les prises de sang, de se soustraire à cette influence des repas. Chez un individu normal, vivant d'une vie à peu près régulière, le moment le plus favorable pour prélever le sang est, soit le matin avant le petit déjeuner, soit l'après-midi vers 5 heures. En se mettant toujours dans ces mêmes conditions, le chiffre obtenu n'offre plus alors de grandes variations.

Cette constatation nous permet peut-être d'expliquer pourquoi le pouvoir opsonique des enfants au sein est, d'une manière générale, *plus élevé* que celui de l'adulte, puisque l'enfant en nourrice, est presque en état *permanent de digestion*.

Comment faire chez les malades soumis au régime lacté pour ne pas leur prélever du sang, peu après une absorption de lait qui peut momentanément au moins, élever le taux de leurs opsonines ? Il est presque impossible de se mettre absolument à l'abri de cette critique qui ne présente pas d'ailleurs une importance capitale. Pour y remédier, nous avons toujours pris le sang chez nos malades, exactement à la même heure, 8 heures du matin avant la distribution de lait qui leur était faite à 8 h. 1/2.

D'autres particularités ne sont-elles pas susceptibles de modifier le pouvoir opsonique ?

Tous les autres facteurs que nous avons successivement envisagés, ne nous ont pas paru influencer beaucoup ce pouvoir.

La fatigue, le repos, la sueur, l'absorption abondante de liquide, pas davantage, ce qui est plus important, *la saignée*.

La grossesse nous a paru augmenter le pouvoir opsonique du sérum de la mère, constatation analogue chez les animaux.

M. Marbé a montré dans une série de notes à la Société de Biologie, juin et juillet 1908, l'influence que les états thyroïdiens exerçaient sur la quantité d'opsonines.

Pour cet auteur, on peut exagérer ou diminuer le pouvoir opsonique du sérum d'un animal, soit en réalisant chez cet animal une greffe de corps thyroïde, soit en lui supprimant le corps thyroïde.

Il en est peut-être de même de l'influence que certaines glandes à sécrétion interne (capsules surrénales, hypophyse, thymus chez l'enfant) exercent par un mécanisme qui nous échappe sur la production de ces opsonines.

Ces recherches pourraient être continuées, chez les myxœdémateux, et les basedowiens, chez les addissoniens, les acromégales, les rachitiques, etc.

A retenir par conséquent surtout, comme susceptible de modifier chez un individu en état de santé, le pouvoir opsonique de son sérum, le rôle de la digestion et du jeûne.

Modification du pouvoir opsonique et de l'indice opsonique au cours des infections

Etude schématique

Nous nous contenterons ici de schématiser un peu les résultats, puisque toute la partie clinique de notre travail, se rapporte uniquement à l'étude de cette question. Nous ne pouvons mieux faire que citer les conclusions auxquelles Wright est arrivé, particulièrement en ce qui concerne la tuberculose :

1° Si l'indice opsonique est normal d'une façon durable par rapport aux germes d'une maladie infectieuse déterminée, c'est signe que le sujet n'est pas atteint de cette maladie ;

2_0 Si la valeur de l'indice opsonique est inférieure à la normale, c'est que le sujet est en puissance d'une infection circonscrite engendrée par les germes en question ; cette infection peut être latente, c'est-à-dire ne se révéler par aucune autre manifestation appréciable (réaction analogue en sensibilité à la cuti ou l'intradermo réaction) ;

3° Si l'indice opsonique est supérieur à la normale ou encore si sa valeur est sujette à des oscillations, c'est preuve que l'inté-

ressé est sous le coup d'une infection généralisée imputable à ces mêmes germes, c'est preuve, dit Wright, de l'existence chez le malade d'un foyer qui lance dans la circulation, par poussées, du virus bactérien ; ces poussées équivalent à de véritables auto-inoculations vaccinales, déterminant une surproduction d'opsonines ; seulement à cette surproduction correspondrait une absorption et une consommation exagérée de ces opsonines, d'où les oscillations constatées.

Wright signale dans la tuberculose une influence imprévue qui modifie la valeur de l'indice opsonique. « S'agit-il d'une lésion facilement accessible, tumeur blanche du poignet par exemple, il suffira d'un léger massage ou d'une constriction modérée exécutée quelques minutes sur l'avant-bras pour modifier beaucoup la valeur de l'indice opsonique. » Pour Wright ces maneuvres auraient pour effet de faire entrer dans la circulation les poisons élaborés dans le foyer tuberculeux, produisant ainsi une sorte d'auto-inoculation, suivie à bref délai d'une exagération des opsonines ; c'est bien d'ailleurs, comme le font remarquer MM. Robin et Arloing, l'hypothèse que l'on doit admettre, pour expliquer la généralisation observée parfois, à la suite d'opérations portant sur des tuberculoses locales.

Nous indiquerons plus loin les modifications du pouvoir opsonique de malades atteints de fièvre typhoïde, nous verrons comment certains incidents de l'évolution, depuis le début jusqu'à la convalescence, y compris les reprises, les rechutes, etc. trouvent leur retentissement sur la courbe générale de l'indice opsonique.

Nous verrons encore, à propos de la plupart des affections, les modifications apportées à cette valeur de l'indice, par les différentes thérapeutiques employées, en particulier, sérumthérapie, et vaccinothérapie ; nous signalerons les résultats obtenus par Wright et ses collaborateurs, à l'aide des « vaccins » ; c'est le moment d'ailleurs de rappeler que cette méthode d'opsonisation a été imaginée pour permettre de contrôler, de doser jour par jour pour ainsi dire, les effets produits par ces vaccins. En outre d'ailleurs de ses applications à la thérapeutique, cette méthode dans l'esprit de Wright, devait être aussi une méthode importante de diagnostic et de pronostic.

Il semblerait naturel, maintenant que nous en sommes arrivé à ce point de notre étude, de développer particulièrement ce côté clinique de la question, et d'essayer d'en tirer des conclusions sur la valeur *diagnostic*, *pronostic* et *thérapeutique* de la méthode.

Procéder ainsi, ne serait pas, croyons-nous, faire œuvre vraiment scientifique. Il nous reste encore à éclaircir un certain nombre de questions soulevées par l'étude de ces opsonines, et dont la compréhension est indispensable, pour pouvoir interpréter, apprécier, l'application de la méthode opsonique à la clinique.

Nous venons en effet, de parler de modifications du *pouvoir opsonique* au cours de différentes affections ; mais il ne s'agit plus d'un *pouvoir* opsonique quelconque, vague, indifférent vis-à-vis d'un germe *quelconque* :

Il s'agit d'une faculté spécialisée : nous n'étudions plus l'opsonine en général, mais une opsonine bien déterminée, se rapportant à un microbe déterminé. Et de cette constatation seule, surgissent, il est facile de le deviner, toute une série de problèmes qu'il faut élucider avant d'aborder les constatations purement cliniques, telles que le diagnostic, le pronostic opsonique.

Sur quelle hypothèse repose en effet le diagnostic opsonique ? Sur l'existence d'opsonines étroitement spécifiques. Nous nous expliquons : l'invasion de l'organisme par une bactérie pathogène déterminée, s'accompagnerait d'une réaction spéciale de notre individu, dont une des caractéristiques serait précisément l'*hyperproduction* d'opsonines susceptibles de n'influencer que cette espèce de bactéries.

Sur quelles hypothèses reposent le pronostic opsonique et les applications thérapeutiques de la méthode opsonique ? Sur le fait que les opsonines jouent un *rôle efficace* dans la défense de notre organisme contre les bactéries, dans l'effort de notre organisme tendant à l'immunité.

Pour être en droit, à notre avis, de parler en clinique de valeur d'indice opsonique, au cours d'une affection quelconque, pour pouvoir tirer des constatations observées, des déductions en vue du diagnostic, du pronostic et de la thérapeutique, il faut élucider d'abord les différents points suivants.

Quelle est la nature, la constitution des opsonines ? Sont-elles spécifiques ? D'où viennent-elles, par quels organes sont-elles produites ? quel rôle jouent-elles dans la lutte de l'organisme parvenant à l'immunité ? *Nature, origine, spécificité* des opsonines, telles sont les questions dont l'étude nous paraît indispensable, avant d'aborder les applications de cette méthode à la clinique.

Nature des opsonines

Mode d'action. — Quelques propriétés chimiques et physiques des opsonines

1° Les opsonines sont-elles dialysables ?

Cette question a été étudiée par Ch.-E. Simon : Du sérum placé dans un sac de collodion est mis à dialyser quarante-huit heures ; à ce moment la recherche du pouvoir opsonique permet de constater une disparition presque complète de ce pouvoir : est-ce que les opsonines ont dialysé ? Il n'en est rien ; cette modification est due à l'absence de *sels* dans le sérum dialysé : il suffit de restituer une certaine quantité de NaCl au sérum pour qu'il retrouve toute son activité opsonisante. Les opsonines ne sont pas dialysables : c'est à une conclusion analogue qu'arrive Warrington (*Lancet* 1907).

2° Sont-elles associées aux albumines du sérum, d'une manière identique aux anticorps ?

Si l'on précipite à l'aide du sulfate d'ammoniaque à saturation les albumines de 50 centimètres cubes de sérum, on constate que le liquide restant ne contient plus d'opsonines. Il va sans dire que l'on s'est d'abord assuré que le sulfate d'ammoniaque même à saturation ne détruisait pas les opsonines.

De cette expérience, l'on est en droit de conclure que les opsonines ont été se fixer sur les albumines du sérum.

Si l'on cherche à pénétrer plus intimement dans le détail de cette expérience, en particulier si l'on recherche sur quel groupe, sérum-globuline ou sérum-albumine, les opsonines se sont

fixées, il semble résulter que cette fixation se soit faite électivement sur le groupe sérum-globuline et infiniment peu sur le groupe sérum-albumine. De recherches récentes de Dante de Blasi (1) ce serait exactement l'inverse que l'on observerait en étudiant les agressines.

Quoi qu'il en soit, la conclusion est que les opsonines s'associent aux albumines du sérum, de la même manière que les anticorps.

Ajoutons une remarque intéressante : la quantité d'opsonines ainsi précipitée, associée aux albumines du sérum, est inférieure à la quantité des opsonines contenues dans le sérum : ce fait est en contradiction avec les constatations de Pick, sur l'antitoxine diphtérique. Il est probable que, pendant les manipulations, une partie des opsonines se perd par imprégnation du filtre, du dialyseur, etc.

Il est facile en effet de montrer comment ces opsonines peuvent se fixer aisément par simple contact sur des corps étrangers. Soit par exemple du sérum dont on a calculé le pouvoir opsonique. Si l'on mélange à ce sérum pendant un certain temps, les corps les plus variés, tels que : albumine d'œuf coagulée, farine de blé, charbon végétal, etc., puis que l'on centrifuge, on constatera dans le sérum surnageant une diminution considérable du pouvoir opsonique. On n'est pas en droit de dire que les opsonines ont été détruites, car si on lave à plusieurs reprises le culot ci-dessus obtenu, on retrouve ces opsonines.

Les opsonines, se comportant dans cette expérience comme les ferments, ont été simplement enlevées du sérum.

Si nous avons insisté sur ces caractères, c'est que leur connaissance nous paraissait faciliter la compréhension de cette question très discutée, à savoir la nature intime, le mécanisme intime de l'opsonisation.

Quelques explications sont nécessaires :

Les opsonines, avons nous dit, sont des substances solubles, contenues dans le sérum normal et les immunsérums, qui ont la propriété d'activer, de favoriser la phagocytose.

---

1. Dante de Blasi. *Sulla natura delle agressine e sul loro comportamento vis petto alle opsonine ann. Ig. Iper*, t. XVIII, 1908, p. 79.

Mais comment activent-elles cette phagocytose ? Sur quels éléments, bactéries ou leucocytes, exercent-elles leurs effets ?

Tandis que Metchnikoff et son école expliquent tous les phénomènes d'immunité par l'action prédominante de substances venant impressionner directement les phagocytes « *stimulines* », d'autres auteurs, en Angleterre et en Allemagne, pensent que l'action de ces substances s'exerce plus spécialement sur les bactéries ; en particulier pour ce qui est des opsonines, leur rôle serait exactement inverse de celui des stimulines, elles impressionneraient directement les bactéries, contractant avec elles de véritables *combinaisons chimiques*, les *préparant* en quelque sorte à être dévorées d'où le nom d'opsonines qui leur a été donné, de Οψωνεω (*je prépare, j'apprête*).

Nous allons exposer les expériences multiples par lesquelles les auteurs essaient de démontrer le bien-fondé de leurs conclusions, et nous nous efforcerons à notre tour d'exposer comment nous entendons ce rôle de l'opsonine.

Expériences établissant le rôle bactériotropique des opsonines

Wright a montré qu'en exposant pendant une courte durée à une température de 55 degrés à 60 degrés du sérum prélevé sur un animal non vacciné on n'observe pas la moindre trace d'une suractivité phagocytaire, le principe opsonisant ayant été détruit par la chaleur.

Au contraire l'exposition à la chaleur ayant eu lieu une fois que bactéries et sérum ont déjà été en contact pendant un certain temps, la suractivité phagocytaire se manifeste après addition de leucocytes frais. Preuve que cette suractivité est imputable non à une action stimulante exercée sur les phagocytes mais à une modification imprimée aux bactéries. Bullock et Atkin, Hektoën et Ruedinger arrivent aux mêmes conclusions et pensent qu'il s'agit d'une action directe sur le microbe, véritable fixation, qui peut d'ailleurs s'opérer même à la température de 0 degré, comme nous l'avons déjà dit.

Neufeld et Rimpau (1) rapportent l'expérience suivante : à un sérum vaccinal antistreptococcique, reconnu très efficace, ils ont

1. Neufeld et Rimpau. *Deutsch. Med. Woch*, 1904, n° 40, p. 1458.

ajouté des leucocytes frais : le tout a été exposé pendant vingt minutes à une température de 55 degrés. Puis les leucocytes ont été isolés par centrifugation, mis en suspension dans du sérum normal auquel on a ajouté des streptocoques virulents. Il n'y a eu qu'une phagocytose très modérée.

Au contraire, si après avoir été mis en contact avec le sérum vaccinal les streptocoques ont été isolés par voie de centrifugation, lavés avec une solution de NaCl, puis mis en présence de leucocytes frais dans du sérum normal, il se produit une phagocytose très active.

Pour Wright il s'agirait d'une véritable combinaison chimique de l'opsonine et du microbe, on peut y voir plus volontiers un phénomène comparable à un mordançage tinctorial.

Ainsi nous paraît démontrée la théorie qui admet une action des opsonines non sur le leucocyte, mais sur le bacille, et les partisans les plus convaincus de la théorie purement phagocytaire de l'immunité ont bien été obligés d'adopter cette manière de voir.

C'est ce qui résulte d'un article de Levaditi (1) contenu déjà en substance dans un précédent travail de Lœhlein : « Cette fixation de l'opsonine sur le corps microbien montre que les sérums opsonisants influencent favorablement la phagocytose en agissant non sur le leucocyte, mais sur les bactéries : cette question est importante car cette conception de l'action directe des sérums opsonisants sur les microbes peut être opposée à l'hypothèse des stimulines formulée par Metchnikoff ». (Levaditi.)

Aussi, pour diminuer l'importance doctrinale de ces constatations, ces auteurs vont-ils discuter l'existence même des opsonines et se refuser à les considérer comme un principe nouveau, jusqu'ici inconnu, des sérums.

Cette critique de l'existence et de la nature intime des opsonines, telle que l'a faite Levaditi, est, nous sommes obligés de le reconnaître, merveilleusement conduite : elle était d'ailleurs contenue en substance dans les conclusions d'un travail de Lœhlein (2) :

---

1. Levaditi. *Presse Médicale*, 31 août 1907.
2. Lœhlein. *Ann. Inst. Past.*, 25 novembre 1906.

« La phagocytose de microbes pathogènes ne dépend que dans un nombre restreint de cas de la présence de substances favorisantes (opsonines) à l'état libre ; — si vraiment le processus phagocytaire ne s'opère qu'à l'aide de ces substances, il faut admettre qu'elles peuvent être fournies par les leucocytes.. —l'introduction du nouveau nom « d'opsonine », pour ces substances n'est pas justifiée, car elles jouent exactement le rôle attribué par Metchnikoff aux fixateurs. »

Levaditi reprend cette argumentation : il montre qu'il faut tout d'abord considérer deux catégories d'opsonines, celles des sérums normaux et celle des immunsérums.

Or, d'après cet auteur, les opsonines des sérums normaux ne seraient rien autre chose que le complément d'Ehrlich, la cytase de Metchnikoff ; les preuves en abondent, les voici énumérées :

1° Le complément est thermolabile : or la prétendue opsonine l'est également ; 2° on peut réaliser avec l'opsonine toutes les recherches de fixation que l'on a faites avec le complément ; 3° Muir et Martin (1) ont montré que les rapports entre les opsonines et les compléments sont des plus étroits : en effet quel que soit le procédé employé pour fixer le complément, qu'il s'agisse de globules rouges, de microbes sensibilisés ou de mélange précipitant, on constate que la propriété opsonique est fixée également ;

4° Si l'on traite des sérums frais avec des levures (Neufeld et Hühn) des débris cellulaires, ou des corps bactériens (Levaditi et Inmann) on constate que ces corpuscules ont absorbé au même titre le complément et l'opsonine ;

5° D'autre part l'étude comparative de la répartition de ces deux principes dans les diverses humeurs de l'organisme (sérum, liquide d'œdème, humeur aqueuse) montre un parallélisme parfait, entre la teneur de ces humeurs en complément et en opsonine (Levaditi et Inmann) ;

6° L'injection à certains animaux de sérum frais ou chauffé provenant d'une espèce animale étrangère, provoque la formation d'une anti-opsonine impossible à différencier de l'anti-compl-

---

1. Muir et Martin. « On the combining properties of opsonins of normal serum ». *British. Med. Journ.*, 22 décembre 1907, t. II, p. 1783.

ment obtenu dans les mêmes conditions (Levaditi et Kœssler). On réalise d'ailleurs avec l'opsonine le phénomène de la déviation du complément. Aucune différence ne peut être révélée entre l'opsonine et le complément dont l'origine leucocytaire semble être définitivement prouvée ; grâce à ses fonctions diastasiques le complément réactive l'ambocepteur bactériolytique ou hémolytique, et engendre la bactériolyse ou l'hémolyse ; en outre, au moyen de ses qualités opsoniques, le même complément intervient dans la phagocytose, dont il exagère l'intensité en se fixant sur les bactéries, et en influençant ainsi indirectement l'englobement de ces bactéries par les leucocytes : Somme toute il s'agit de deux fonctions distinctes appartenant à une même substance, telles deux fonctions chimiques différentes reliées sous forme de chaînes latérales à un noyau « benzénique unique ».

En ce qui concerne les *opsonines des immunsérums* elles sont assimilables à l'*ambocepteur* spécifique.

En effet, d'après Levaditi, dans ces immunsérums les opsonines sont *relativement* thermostabiles : il est possible d'ailleurs de réactiver un immunsérum préalablement chauffé, en lui ajoutant des traces de sérum dilué, preuve que ces opsonines ont la même constitution complexe que les ambocepteurs.

Enfin dans les immunsérums les opsonines seraient assez étroitement spécifiques.

En résumé, *l'opsonine* des sérums neufs est assimilable au *complément*, celle des *immunsérums* à *l'ambocepteur*. Il ne s'agit donc pas de qualités *nouvelles*, inconnues du sérum, mais simplement de qualités depuis longtemps étudiées, rendues seulement plus faciles à apprécier par une méthode simple.

Que faut-il penser de cette théorie ? Enumérons d'abord les idées successivement émises par les auteurs qui se sont occupés de cette question.

Pour Wright et Douglas, les opsonines ne seraient assimilables ni au complément ni à l'ambocepteur, elles posséderaient des *propriétés bien spéciales*. Dans le mémoire cité de Lœhlein, cet auteur s'occupant des opsonines surtout dans les sérums neufs, arrive à cette conclusion : « la substance opsonique n'est identique ni à la bactériolysine, ni au complément, ni aux ambocep-

teurs de ces sérums frais. Pour lui les opsonines se rapprocheraient plutôt des agglutinines.

Faut-il ajouter, que partisan convaincu de la théorie phagocytaire de l'immunité, cet auteur admet que les opsonines sont d'origine leucocytique, et en dernière analyse, il veut bien les rapprocher des ambocepteurs, à la condition qu'il s'agisse d'ambocepteurs un peu spéciaux, bactériolytiques.

Pour Georges Dean (*loc. cit.*), l'action opsonisante d'un sérum serait dûe à l'action de deux corps agissant ensemble, les uns thermostabiles, fixateurs, substances sensibilisatrices, ambocepteurs qui, seuls, sont incapables d'avoir une action opsonisante, et les autres complément libre, alexine, cytase, thermolabiles : Neufeld et Hüne, dans un travail récent, s'efforcent d'établir une distinction entre l'ambocepteur et l'opsonine spécifique, et considèrent cette dernière comme une substance à part qu'ils désignent sous le nom de bactériotropine ; pour ces auteurs il n'existe pas de parallélisme entre le pouvoir opsonique de certains sérums, et leur teneur en ambocepteur bactériolytique ; il est possible, d'autre part, de rencontrer des sérums spécifiques très opsonisants, qui cependant se montrent dépourvus d'ambocepteurs (expérience de bactériolyse *in vitro*).

A cet argument, Levaditi répond que la réaction de la déviation du complément (phénomène de Bordet et Gengou) permet de déceler la sensibilisatrice dans des sérums spécifiques dépourvus de qualités bactéricides : l'absence de parallélisme entre l'intensité de la bactériolyse et de l'opsonisation peut s'expliquer par le fait que ces deux ordres de propriétés sont appréciés par des réactifs différents.

Dans une revue générale très documentée, Sauerbeck arrive également à une conclusion différente de celle de Levaditi.

Pour V. Henri enfin, les propriétés spéciales des sérums soumis à l'influence de telle ou telle température dépendraient uniquement des modifications d'ordre physique subies par les constituants colloïdes de ces sérums. Il n'est plus question d'opsonine — pas davantage d'ailleurs que de complément et d'ambocepteur — il ne s'agit plus que de modifications dans l'état d'équilibre des colloïdes du sérum.

On voit quelle obscurité règne encore sur cette nature même des opsonines, et l'on comprend bien que Strübell ait conclu après une discussion analogue : « Nous ne savons encore rien de *bien précis* touchant la *nature des opsonines*. »

Nous n'avons pas la prétention de vouloir solutionner un pareil problème.

Nous déclarons attribuer à la thèse soutenue par Levaditi la meilleure part de vérité, néanmoins nous nous permettrons quelques objections.

Levaditi admet comme démontrée, en ce qui concerne les sérums normaux, l'origine leucocytaire, et du complément et de l'opsonine ; en étudiant dans quelques instants cette origine, nous verrons combien est loin d'être solidement établie cette conclusion.

En ce qui concerne les immunsérums, nous nous sommes déjà expliqué sur la thermostabilité infinitésimale des opsonines de ces sérums, et sur la faible réactivation d'un sérum chauffé à l'aide d'un sérum normal dilué ; nous avons également cité différents auteurs qui finissent par reconnaître à l'opsonine deux groupements qui se complètent ; l'un thermolabile, le plus important, l'autre minime, thermostabile.

Il nous restera à discuter la question de spécificité que Levaditi considère comme un fait démontré, et qui fera l'objet du prochain chapitre : nous y verrons comment, soit au nom de la clinique, soit au nom de l'expérimentation, il ne faut parler que d'une spécificité *très relative*, à ce point que Mac Farland et L. Engle de Philadelphie en arrivent à conclure à l'existence du mélange, dans les immunsérums, d'opsonines, spécifiques, en petite quantité, et d'opsonine indifférente en majeure partie.

Faut-il conclure, à cause des difficultés d'interprétation, à la non-existence des opsonines et à la condamnation absolue de toute la méthode d'opsonisation, ou bien, avec Levaditi, assimiler totalement l'opsonine du sérum neuf au complément, et celle de l'immunsérum à l'ambocepteur?

En ce qui concerne les opsonines des sérums normaux, restriction faite cependant de l'origine leucocytaire encore imparfaitement démontrée, nous admettons une analogie avec le com-

plément, mais seulement une analogie, et non une identification absolue, restriction permettant l'interprétation de certains phénomènes. Quant aux opsonines des immunsérums, elles ne nous paraissent ni assez étroitement spécifiques, ni assez nettement thermostabiles, pour être identifiées absolument aux ambocepteurs spécifiques. Elles sont un complexe, résultat peut-être de la combinaison en proportions variables d'ambocepteur et de complément, et non des substances facilement isolables, absolument analogues à telles propriétés déjà connues des sérums.

Certains auteurs supposent, au contraire, qu'elles sont des substances parfaitement immuables des sérums, qu'un autre facteur, variable, et méconnu encore, vient influencer. Mais nous entrons alors dans le domaine des pures hypothèses, et nous ne voulons pas nous y laisser entraîner, d'autant que le but de toutes ces théories, est simplement au fond d'infirmer ou d'étayer telle ou telle théorie doctrinale de l'immunité.

En résumé, même à ce point de vue doctrinal, il n'en est pas moins vrai que l'étude des propriétés opsonisantes des sérums a modifié les vues intransigeantes des savants allemands et Anglais, sur leur façon de concevoir le mécanisme de l'immunité. Un certain nombre d'entre eux, à l'occasion de ces recherches, invoquent maintenant la phagocytose pour expliquer l'immunité, dans les nombreux cas où les qualités bactéricides du sérum se montrent impuissantes à résoudre le problème ; ce sont ces études sur l'opsonisation qui ont amené ce changement d'opinion chez les observateurs allemands, qui paraissaient vouloir ignorer l'activité du globule blanc, dans l'immunité active et passive. Actuellement ainsi, par des voies un peu différentes, Bail et ses élèves, Neufeld et ses collaborateurs, en arrivent à la théorie presque exclusivement phagocytaire de l'immunité.

Il importe de rechercher maintenant quelle est l'origine des opsonines.

Origine des opsonines

Comme préparation à cette étude, nous allons rappeler brièvement quelques travaux analogues sur l'origine de certaines

autres substances contenues dans le sérum, travaux qui nous permettront de mieux comprendre les recherches exposées plus loin, relatives aux opsonines.

Signalons tout d'abord, la *Revue générale* de Besredka sur « Les substances bactéricides et les leucocytes ». *Annales de l'Institut Pasteur,* 1898, p. 607, et deux articles de O. Gengou (*Annales de l'Institut Pasteur*, février et avril 1901), dans lesquels l'auteur conclut à l'origine leucocytique de l'alexine, et d'une manière plus précise à l'origine leucocytique polynucléaire, contrairement aux agglutinines qui ne dériveraient pas des leucocytes.

Dans une étude récente, qui nous a servi de modèle pour conduire nos expériences personnelles sur l'origine des opsonines, Kraus et J. Schiffmann étudient l'origine des agglutinines et des précipitines (1).

Ils rappellent : 1° que Pfeiffer et Marx (*Zeitschrif. f. hyg.*, 1898, Marchoux et Salimbeni, Wassermann (*Berl. Klin. Woch.*, 1898, n° 10), Levaditi (*Ann. de l'Institut Pasteur*, 1904) ont montré que les organes leucopoïétiques, en particulier la rate, la moëlle osseuse, les ganglions lymphatiques, interviennent d'une façon active dans la fabrication des anticorps bactériolytiques, tandis que les précipitines et les agglutinines ne se forment pas dans les organes, mais bien dans le système vasculaire, probablement aux dépens des endothéliums, contrairement aux conclusions primitives de Dungern, Kraus et Levaditi, qui avaient établi la possibilité, pour toutes sortes de cellules, de créer des précipitines (2).

En ce qui concerne l'origine des agressines (3), la question n'est pas encore définitivement tranchée ; il semble cependant que l'on doive reconnaître une origine purement microbienne à l'agressine. Pour Bail et Weil l'agressine provoquée arti-

---

1. « Sur l'origine des anticorps. — Précipitines et agglutinines ». *Ann. de l'Institut Pasteur*, 25 mars 1906, p. 225.

2. Dungern. *Die Antikœrper Fischer*, Iéna, 1903. — Kraus et Levaditi. *Rev. de l'Académie des Sciences*, t. IV, 1904.

3. Wasserman et J. Citron : Ueber den Unterschied zwischen natürlichen und künstlichen agressinen. *Centralbl. Bact.*, 1907, p. 373.

Consulter sur cette question des agressines peu étudiée en France, Sauerbeck. « Ueber die agressine. *Zeitschrift. f. hygiene.* LVI, 1907, p. 81-III. H. Friese. Kritische

ficiellement aurait une origine plus complexe : « elle serait le résultat d'une substance produite dans la lutte entre l'organisme et les microbes ; elle s'opposerait à l'action des leucocytes sur les bactéries. » Pour Wasserman l'agressine est un produit direct du microbe ; on peut en effet obtenir une agressine artificielle identique à celle de Bail, en agitant des cultures microbiennes dans de l'eau distillée.

Ainsi s'expliqueraient peut-être quelques phénomènes signalés au cours de ce travail, en particulier l'influence du microbe (âge, virulence), dans le mécanisme de l'opsonisation. Opsonine et agressine, seraient en quelque sorte deux propriétés exactement opposées ; l'une favorisant, l'autre empêchant la phagocytose.

Tels sont donc, brièvement énumérés, les travaux qui nous renseignent sur l'origine de certaines substances contenues dans le sérum.

En ce qui concerne les opsonines que sait-on au juste ?

Levaditi indique une origine leucocytaire aux opsonines des sérums normaux, parce que ces opsonines sont absolument identiques au complément qui a une origine leucocytaire, et parce qu'il n'a rencontré ces opsonines que dans les exsudats riches en leucocytes.

D'après Metchnikoff : 1° les exsudats non leucocytaires ne sont pas opsoniques ; 2° le plasma ne le serait pas davantage ; et 3° le sérum ne devrait son pouvoir opsonique qu'à la « phagolyse » qui accompagne la coagulation.

Beattie de Scheffield, pense également que les opsonines dérivent des leucocytes : elles se produisent non seulement par phagolyse, mais aussi par sécrétion de ces leucocytes nullement altérés : il constate cependant le pouvoir opsonique du plasma et émet l'idée que les cellules endothéliales peuvent contribuer aussi à former les opsonines.

Pour Charlton Briscoë les opsonines existent dans le sang, d'une manière inactive, sous forme d'*opsinogène*, et ne résultent ni de la blessure ni de la mort des leucocytes.

ünd experimentale studien Zür agressinfrage. *Arch. f. hygiene.* L X, 1907, p. 261-297. — R. Turro. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 20 juillet 1907 : sur l'action des agressines.

Wright et Ch.-E. Simon (1) refusent également tout rôle aux leucocytes dans la production des opsonines.

Dans un travail récent Sleswijk (2) démontre que des leucocytes mis dans un milieu indifférent (eau physiologique) n'y sécrètent pas d'opsonines.

Tel est l'état de la question : nous avons institué une série de recherches pour essayer d'arriver à une conclusion définitive. Pour cela nous avons tout d'abord vérifié le bien fondé des arguments présentés par les auteurs qui soutiennent l'origine leucocytaire des opsonines, nous réservant d'après nos constatations d'adopter leurs conclusions ou d'en émettre de nouvelles.

Le premier de ces arguments, nous le répétons, est le suivant : *seules* les humeurs de l'organisme qui contiennent des *leucocytes* sont *riches* en opsonines.

Nous avons groupé, ci-dessous, les faits qui paraissent donner raison à ces auteurs, nous leur avons opposé certaines critiques et la constatation de certains faits contradictoires qui nous conduiront à mieux connaître cette origine des opsonines.

1° Urines (dépourvues de leucocytes et d'opsonines)

Le pouvoir opsonique du sérum d'une série d'individus normaux pour le bacille d'Eberth oscillait entre 0,90 et 1,10 ; le pouvoir opsonique de leurs urines fut (0,12) (0,16) (0,13) (0,12), c'est-à-dire à peu près nul relevant uniquement de la phagocytose spontanée.

Le pouvoir opsonique du sérum de 12 typhiques oscillait comme valeur entre 1,70 et 3. Le pouvoir opsonique de leurs urines oscillait entre (0,40) et (0,20) ; une seule fois on obtint (0,90). Ce n'était d'ailleurs pas chez celui dont le sérum était le plus riche en opsonines. Cette valeur, un peu supérieure à la précédente, paraît simplement prouver qu'une partie des opsonines s'élimine par l'urine (3).

En ce qui concerne les expériences portant sur les urines, on

1. Ch.-E. Simon : *Institut for medical Research*, vol. VI, 1907, p. 663.

2. Sleeswijk. *Ann Inst. Past-Dec*, 1907, p. 968.

3. David Lawson et Miller (*Lancet*, 1907) ont étudié cette élimination des opsonines par les organes : chez les tuberculeux il existe une élimination assez considérable des opsonines par les urines. La courbe de cette élimination est irrégulière et expliquerait, pour ces auteurs, les oscillations de la quantité d'opsonines du sang : quand cette quantité s'abaisse dans le sang, elle augmente dans les liquides excrétés. La « phase négative » constatée après une inoculation dans le sang, s'accompagnerait au contraire d'une augmentation des opsonines dans les liquides excrétés.

est en droit de se demander si l'acidité des urines, l'urée, etc... ne sont pas susceptibles de fausser les recherches d'opsonisation.

Nous avons trouvé d'ailleurs des urines purulentes, riches en leucocytes, dépourvues cependant d'opsonines.

2° Larmes

Le pouvoir opsonique des larmes est insignifiant.

3° Liquide Céphalo-rachidien

1° *Liquides céphalo-rachidiens dépourvus d'éléments cellulaires et d'opsonines*

Nature de la maladie	Pouvoir opsonique du sérum	Pouvoir opsonique du liquide	Examen cytologique et chimique du liquide
Erysipèle : agitation, délire	1,09	0,17	Pas d'éléments leucocytiques.
F. typhoïde, délire	2,30	0,22	Hypertension, albumine, chlorures augmentés, pas de leucocytes.
F. typhoïde, délire	2,50	0,15	Hypertension, albumine, pas de leucocytes.
id.	1,95	0,16	id.

2° *Liquides céphalo-rachidiens également* **dépourvus** *d'opsonines bien que contenant des* **leucocytes.**

F. typhoïde (phén. méningés)	2,80	0,23	Quelques polynucléaires, pas d'agglutinines, culture négative.
F. typhoïde, délire	2,50	0,17	Quelques polynucléaires, pas d'agglutinines, *culture* positive Eberth.
F. typhoïde (agitation extrême)	1,90	0,15	Quelques éléments, agglutine au $\frac{1}{30}$ en 1/2 heure.
Méningite tuberculeuse	1,10	0,16	Lymphocytes, quelques polynucléaires.
Méningite tuberculeuse	1,40	0,20	Lymphocytes, quelques polynucléaires.

Nous profitons de ces constatations pour signaler le fait clinique suivant : souvent chez des typhiques « assez *fortement albuminuriques* » il existe en même temps que cette albuminurie des troubles nerveux tels que céphalée intense, délire, agitation extrême, phénomènes méningés : chez ces malades la ponction lombaire permet de constater une très forte hypertension du liquide céphalo-rachidien : l'examen chimique du liquide dénote une légère albuminurie avec augmentation de Nacl ; l'examen cytologique ne révèle le plus souvent aucun élément cellulaire, ou tout au moins très peu d'éléments cellulaires, l'examen bactériologique reste le plus souvent négatif. En quelques heures l'évacuation de 15 centimètres cubes de ce liquide calme la céphalée, le délire, les phénomènes méningés qui en général ne se reproduisent pas.

Peut-être s'agit-il de liquides toxiques accumulés dans les espaces sous-arachnoïdiens ; peut-être de méningites bactériennes sans réaction cellulaire comme MM. Achard, Ménétrier, Netter, etc., en ont rencontré récemment au cours de certaines infections.

4° Liquide pleural

Un liquide pleural typhique très riche en polynucléaires présente un pouvoir opsonique de *4,30*.

Le sérum de cette malade avait un pouvoir de *4,50*.

Le liquide d'un pyo-pneumothorax est également très riche en opsonines, moins que le sérum du malade cependant.

Il semble que ces liquides, qui contiennent une si grande quantité de leucocytes, devraient être extrêmement riches en opsonines : or leur pouvoir est égal ou même inférieur à celui du sérum.

Peut-on objecter que les bacilles présents ont absorbé les opsonines formées ? Serait-ce l'action des agressines ou des antiphagines qui se ferait ainsi sentir ?

5° Autres liquides de l'organisme

Chez l'animal, le sperme, le lait, la bile, le liquide de la cham-

bre antérieure de l'œil ont un pouvoir opsonique presque négligeable.

Cependant le lait d'une malade dont nous rapporterons plus loin l'observation (1) se montra assez riche en opsonines. Peut-être ne s'agit-il que d'une excrétion passagère ou même d'une simple filtration ; d'ailleurs dans le lait on trouve des éléments cellulaires parmi lesquels des leucocytes.

Que résulte-t-il de ces diverses constatations ?

Cette première proposition, seules les humeurs de l'organisme contenant des leucocytes, contiennent parallèlement des opsonines, est-elle démontrée d'une manière irréfutable ?

Notre avis est qu'elle ne l'est pas d'une manière absolue : certains liquides contenant des leucocytes, liquide céphalo-rachidien, urine, etc., peuvent ou ne pas contenir du tout d'opsonines, ou en contenir très peu, alors que d'autres contenant en extrême abondance des leucocytes (pleurésies typhiques) ne renferment pas une quantité d'opsonines aussi considérable qu'on aurait pu le croire devant une telle richesse leucocytaire. Enfin les leucocytes isolés par un procédé quelconque, lavés soigneusement et mis ensuite dans de l'eau physiologique, sont incapables d'y engendrer des opsonines.

II. — Proposition soutenue par les auteurs qui indiquent une origine leucocytaire aux opsonines.

1° Dans le sang circulant, il y a peu ou pas d'opsonines ;

2° Le sérum seul en contient beaucoup précisément à cause de la destruction des leucocytes qui accompagne sa formation ; cette quantité augmente d'ailleurs encore, si le sérum reste au contact des leucocytes dégénérés.

Wright nie le premier fait. Pour cet auteur, il existe des opsonines dans le sang circulant. L. Veitch (dont nous avons exposé la technique), recherche comme Leischmann les opsonines sur le sang total, qu'il empêche de coaguler avec une solution de citrate : il constate de cette manière la présence d'opsonines

1. Milhit. « Passage des opsonines de la mère au fœtus ». *Gaz., des Hôp.*, 23 juin 1908.

dans le plasma en quantité parallèle à celle contenue dans le sérum.

En opérant avec des tubes *paraffinés* conservés à la glace et *centrifugés*, nous avons pu, sauf de très légères erreurs, obtenir du plasma à peu près pur, qui contenait autant d'opsonines que le sérum du même individu,

On pourrait répéter ces expériences, en empêchant la coagulation du sang par d'autres procédés, après avoir vérifié toutefois, que ces substances n'interviennent que fort peu dans le mécanisme de l'opsonisation.

Pour Beattie de Scheffield la richesse opsonique d'un sérum croît au fur et à mesure que ce sérum reste au contact des globules blancs du caillot.

Nous avons en vain plusieurs fois essayé de vérifier cet accroissement des opsonines, en laissant une certaine quantité de sérum au contact du caillot.

Il ne nous a pas paru non plus que le sang des cadavres fût plus riche en opsonines, comme cela a été signalé pour l'alexine par Gay (« Alexic activity of the blood serum of cadavers », *Journ. Med. Res.*, t. XVII, p. 363, déc. 1907), phénomène que l'auteur explique par la destruction des leucocytes. Outre que les phénomènes de cadavérisation sont complexes et n'intéressent pas seulement les leucocytes (ce qui ne permettrait pas une conclusion aussi catégorique), nous avons toujours observé une diminution nette du pouvoir opsonique dès huit heures après la mort.

III. — Autres objections a la théorie de l'origine leucocytaire des opsonines

Si les opsonines reconnaissaient comme origine les leucocytes, il devrait y avoir parallélisme entre les variations de la leucocytose sanguine et les variations des opsonines.

Or ce parallélisme n'existe nullement : que l'on provoque artificiellement l'hyperleucocytose, que ce soit la nature

qui la réalise (1) ou qu'une maladie s'accompagne de leucopénie, il sera impossible de prévoir, soit d'après les numérations de globules blancs du sang, soit d'après la fragilité spéciale des leucocytes (recherchée suivant le procédé indiqué par M. Achard) le pouvoir opsonique du sérum et le faire serait s'exposer à des erreurs certaines.

Ne voyons-nous pas, par exemple, la leucopénie de la fièvre typhoïde s'accompagner d'une augmentation des opsonines ? mais précisément cette constatation nous amène à la réserve suivante : est-ce que les numérations globulaires traduisent bien les réactions intimes des différents organes hématopoïétiques ? Est-ce que vraiment dans la fièvre typhoïde ces organes hématopoïétiques sont en état de vie ralentie ? Nous trouvons la réponse à cette question dans la thèse de Balthazard.

Cet auteur (2) montre combien intense est au cours de la fièvre typhoïde la réaction macrophagique, preuve de la destruction des polynucléaires, comment la leucopénie peut s'expliquer par une destruction exagérée des leucocytes l'emportant sur la néoformation, et combien d'ailleurs dans la fièvre typhoïde la moelle osseuse traduit son activité, par une augmentation notable de tous les éléments de la série myélogène : par conséquent la seule numération globulaire ne donne pas toute la réalité intime des phénomènes intéressant les réactions des organes hématopoïétiques : il importerait en outre de connaître l'activité de cette réaction macrophagique qui met peut-être en liberté soit directement des opsonines, soit un élément qui contribue à leur formation, toutes considérations qui viennent compliquer le problème.

Pour certains auteurs, ce ne sont d'ailleurs pas tous les leucocytes qui interviennent pour donner naissance aux opsonines, mais seulement une certaine catégorie ; pour Charlton Bris-

---

1. Il n'y eut pas augmentation de ce pouvoir opsonique dans le sérum de leucémiques que nous avons étudiés à ce point de vue : une leucémie lymphogène aiguë (provenant du service de M. Apert à Saint-Louis) avec 80.000 globules blancs et deux leucémies myélogènes. Il est vrai que dans ces cas on peut nous objecter qu'il s'agit d'une maladie primordiale des globules blancs.

2. Balthazard. « Toxine et anti-toxine typhiques. » Th. Paris, 1903, p. 215.

coë (1) ce sont les polynucléaires neutrophiles. Or, dans les hyperleucocytoses à polynucléose, l'augmentation des opsonines est loin d'être parallèle à cette hyperleucocytose.

Les opsonines ont-elles leur origine dans les lymphocytes ? Nous ne le croyons pas davantage, étant donnée la pauvreté en opsonines des macérations de ganglions.

D'autres auteurs pensent que ce sont les éosinophiles qui leur donnent naissance, à cause de l'abondance de ces opsonines à la période de convalescence. Le sérum d'un malade en poussée de dermatite bulleuse avec 12 0/0 d'éosinophiles ne nous présenta pas cependant un pouvoir opsonique plus élevé que celui d'un individu normal ; toutefois le sérum d'un lapin (expérience de Simon) nourri de 1.700 trichines et en réaction éosinophile nette, eut pendant quelques jours un pouvoir opsonique augmenté.

Voici donc accumulées une série d'objections contre l'origine leucocytaire pure des opsonines : en résulte-t-il qu'il faille nier *absolument* cette origine leucocytaire ? nous ne le croyons pas, surtout en raison des faits que nous allons maintenant exposer.

Spécialement en ce qui concerne la fièvre typhoïde, nous avions à notre disposition un procédé nous permettant d'exalter considérablement le pouvoir opsonique d'un sérum vis-à-vis le bacille d'Eberth ; c'était l'injection du sérum anti-typhique de M. Chantemesse, qui, chez les lapins inoculés antérieurement de bacilles d'Eberth, était suivie, nous le verrons plus loin, d'une élévation rapide et très considérable des opsonines.

Or, que trouvons-nous si l'on sacrifie ces animaux : une rate plus que doublée de volume comparée à celle d'un animal témoin ; une moelle osseuse en hyperactivité, une assez forte poussée leucocytaire. Ces expériences plusieurs fois répétées nous ont toujours permis de confirmer les données établies sur ce point par Balthazard (*loc. citato*). Ces faits sont si constants et si nets dans toutes ces expériences, on les retrouve avec une telle régularité en clinique (après l'injection de sérum, hypertrophie considérable de la rate, légère leucocytose, etc.), que, négligeant un peu notre argumentation précédente, nous som-

1. Charlton Briscoë. « Caractères des cellules intéressées dans la phagocytose et la source des opsonines. » *Lancet*, 1907.

mes obligé à notre tour d'invoquer le rôle incontestable de ces organes hématopoïétiques dans la production des opsonines ; ce que nous ignorons encore, c'est la part exacte qui leur revient, et que nous allons essayer d'élucider.

Toutes ces constatations, on le voit, se contre-balancent les unes les autres. Pour nous faire une opinion plus exacte, nous avons alors essayé de résoudre le problème suivant :

N'est-il pas possible d'extraire des opsonines en abondance de différents organes, précisément de ceux qui contribuent à former le sang ?

Charles-E. Simon a réalisé plusieurs expériences à l'aide de macérations d'organes : il faut saigner à blanc l'animal qui va fournir les organes, pour se mettre à l'abri de la cause d'erreur due à la présence du sang (technique analogue à celle de Levaditi, pour la préparation des sucs d'organe, dans ses recherches sur les hémolyses). Ch. E. Simon n'obtint que des résultats négatifs avec l'extrait de muscles, foie, reins, muqueuse intestinale, surrénale, cerveau, pancréas, testicule, ovaire, thyroïde, thymus.

Mêmes résultats négatifs avec la rate, les ganglions, la moelle osseuse : avec cette dernière toutefois, il obtint quelques figures de phagocytose, dues, dit-il, à l'impossibilité de bien priver de sang le canal médullaire.

Nous avons répété cette expérience sur un chien normal : son sérum avait un pouvoir opsonique de 1,20 envers le bacille d'Eberth. Le pouvoir des différents sucs de ses organes variait entre 0,15 et 0,20 ; celui de la moelle osseuse était de 0,16.

Pensant qu'il fallait peut-être aux organes un certain temps pour abandonner les opsonines, nous avons fait, après broyage suivant les méthodes usuelles, des extraits glycérinés, des macérations à l'eau physiologique, conservées à la glace ou à l'étuve à 37, pendant des temps variables : ces extraits, ces macérations sont restés toujours inactifs, dépourvus d'opsonines quand il s'agissait d'animal normal. S'il s'agissait d'animal inoculé avec du bacille d'Eberth, et ayant reçu ultérieurement du sérum antyphique, certaines macérations de rate et de moelle osseuse conservaient encore une légère activité opsonique, mais très infé-

rieure à celle du sérum, ce qui permet de penser à un simple reliquat d'opsonines, et non à une auto-production *in situ*.

Un autre procédé s'offrait à nous, pour constater si certains organes ne déversaient pas dans la circulation une certaine quantité d'opsonines. Il suffisait, sur un animal *non chloroformisé*, de prélever du sang à l'entrée et à la sortie de certains viscères, artère et veine splénique, veine porte, veine cave, veine sus-hépatique, etc., et d'en mesurer comparativement le pouvoir opsonique.

Les résultats de nos recherches sont contenus dans le tableau suivant (page 96.)

Est-il possible de tirer une conclusion de ces multiples recherches : les adversaires de la technique de l'opsonisation ne manqueront pas d'invoquer les variations obtenues dans ces expériences, pour montrer le peu de fond que l'on doit faire sur la méthode en elle-même.

Nous ne croyons pas que les chiffres ci-joints, très fidèlement rapportés, soient imputables à des défauts de technique, parce que l'expérience plusieurs fois renouvelée pour un même sérum, lorsque l'écart nous paraissait trop grand, nous donnait toujours à peu près le même résultat.

A de rares exceptions près, qu'y voyons-nous ? Un pouvoir opsonique plus grand, surtout chez les animaux inoculés, et traités par le sérum, dans la veine splénique, la veine sus-hépatique. Aucune activité des macérations, sauf dans les deux dernières expériences, où il s'agit d'animaux immunisés. (A moins que cette activité opsonique relève simplement d'un reliquat de sérum, dans les organes ayant servi aux macérations.) D'ailleurs, aucun de ces résultats n'est suffisant pour établir d'une manière incontestable le rôle effectif d'un organe dans la production des opsonines : par contre ils semblent indiquer un rôle, encore bien imprécis toutefois, de certains organes, foie, rate, mais un rôle spécial ne pouvant exercer son effet qu'en présence du sang, en corrélation directe avec le sang, puisque la macération seule de l'organe ne donne rien, ou presque rien. Cette macération, ajoutons-le d'ailleurs, mélangée en proportions variables avec le sérum, n'en a pas augmenté d'une manière sensible, le pouvoir opsonique.

Pouvoir opsonique vis-à-vis le bacille d'Eberth (1)

	Animal servant à l'expérience	Sang pris à l'oreille comme dans toutes nos expériences	Sang de l'artère splénique	Sang de la veine splénique	Sang de la veine porte	Sang de la veine cave inférieure	Sang de la veine sus-hépatique	Sang du cœur droit	Sang du cœur gauche	Macérations huit heures à la glacière, quantités toujours égales				Testicule, caps. Surrénale thyroïde (2)
			Difficulté de bien réussir ces 2 prises							foie	ganglions	rate	moelle osseuse	
I	Chien normal	1	0,84	0,93	0,80	0,70	1,08	1,06	0,90	0,35	0,31	0,60	0,50	0,35
II	Chien normal	0,90		0,95	0,82	0,90	0,97	1	0,80	0,23	0,30	0,31	0,28	0,28
III	Très forte chienne injectée cinq jours auparavant de 5 cent. cubes de culture d'Eberth, n'ayant pas présenté cliniquement de symptômes ni de lésions à l'autopsie, sauf la rate un peu grosse.	1,90	1,80	2,44	2,37	1,60	2,08	2		0,20	0,18	0,20	0,20	0,20
IV	Lapin normal	1,70		1,70			1.60			0,30	0,27	0,35	0,20	
V	Lapin normal	1,60								0,20	0.18	0,25		
VI	Lapin A voir sa courbe plus loin. Inoculé Eberth, puis injection 5 gouttes de sérum anti-typhique (sacrifié douze heures après, rate et moelle osseuse déjà en activité)	2,90		3,27			3,29			0,26	0.21	0,31	0,20	
VII	Lapin B' voir sa courbe plus loin. Inoculé Eberth, puis injection 5 gouttes de sérum anti-typhique, sacrifié vingt-quatre heures plus tard (grosse rate, moelle osseuse très active)	3,20		3,63		2,88	3,22			0,32	0,24	0.26	0,24	
VIII	Lapin B n° 3, inoculé à plusieurs reprises voir sa courbe, puis sérum anti-typhique quarante-huit heures avant d'être sacrifié : très grosse rate.	4,60		**4,30**	3,90	4,40	4,90			**0,85**	**0,58**	**1,50**	**1,15**	
IX	Lapin C n° 4, courbe typique d'inoculations successives, puis injection de sérum Chant., sacrifié, après complète guérison (a eu dans son évolution plusieurs fois 4, 4, 60)	2		2,22	1,87	1,69	2,14			**1,10**	0,80	**2**	**1,15**	

1. On a vérifié le pouvoir opsonique en se servant de leucocytes humains et en contrôlant avec des leucocytes provenant d'animaux de même race. Les proportions étaient sensiblement les mêmes.

2. M. Marbé (Soc. de Biologie, 20 juin et 28 juin 1908) signale l'augmentation de la teneur en opsonines du sérum d'un animal, auquel on fait ingérer des corps thyroïdes.

Le sérum d'un animal privé de son corps thyroïde, perdrait dit l'auteur son pouvoir hyperopsonique. (Nos macérations de corps thyroïdes, faites bien avant ces recherches, ne nous ont jamais donné de résultats positifs).

Il est donc très difficile d'attribuer en dernière analyse, aux organes et aux cellules de l'organisme, la sécrétion pure et simple des opsonines telles que nous les connaissons.

Avant de conclure et d'exposer nos idées sur l'origine de ces opsonines, exposons encore très brièvement les résultats de deux sortes de recherches que nous avons encore effectuées.

I. — La splénectomie n'empêche pas le passage d'opsonines dans le sérum : ceci concorde avec les recherches de Pfeiffer et de Marx, de Rath, de Van Emden, relativement aux anticorps.

Cette expérience indique seulement que la rate n'est pas le seul organe susceptible d'intervenir dans la production des opsonines.

II. — Si l'on pratique des saignées chez les animaux en expérience, le plus souvent le pouvoir opsonique n'est pas abaissé ; s'il l'est, l'abaissement est de très courte durée, il est d'ailleurs très peu appréciable. Même constatation d'ailleurs, dans la fièvre typhoïde, au cours de l'hémorragie intestinale.

Il se produit là quelque chose d'analogue à ce que l'on observe, pour les toxines et les anti-toxines, comme cela a été établi par les recherches classiques de Roux et Vaillard, de Salomonsen et Madsen (*Ann. Inst. Pasteur,* 1898, p. 763) ; même résultat en ce qui concerne le pouvoir bactéricide du sang), London, (*Arch. des Soc. biolog. de l'Institut impérial de Saint-Pétersbourg,* t. VI, n° 2.)

En résumé, comme les agglutinines et les précipitines, les opsonines ne paraissent donc pas être formées directement par un organe ou une cellule quelconque de l'organisme (globules rouges, globules blancs, hématoblastes?) tandis qu'au contraire cette origine leucocytaire paraît bien établie pour l'alexine.

Signalons cependant en ce qui concerne encore les opsonines le rôle des hématies invoqué par J.-O. Wakelin Barratt. (Die quantitative bestimmung der erythrocyten opsonine. *Centralblatt Bact.,* 1907, p. 838.)

En résumé les opsonines sont par certains côtés, analogues aux agglutinines et aux précipitines, et en diffèrent cependant par certaines particularités. Elles sont analogues, pour d'autres raisons, aux anti-toxines et aux anticorps bactériolytiques, et en diffèrent, cependant, par des caractères essentiels. Elles ne

peuvent donc reconnaître absolument la même origine que toutes ces substances, ni leur être assimilées d'une façon étroite.

Quelle doit être notre conclusion de ces trop longues recherches ?

I. — Nous ne pouvons croire à une *origine entièrement* et *exclusivement leucocytaire* des opsonines, qu'elles résultent soit de la sécrétion, soit de la désagrégation de ces leucocytes.

II. — D'autre part, devant la constatation de la réaction *constante* extrêmement marquée des organes hématopoïétiques, au cours de nos expériences, en particulier sur les animaux inoculés par le *sérum anti-typhique*, réaction allant de pair avec une exaltation des opsonines, nous ne pouvons non plus négliger absolument le rôle des organes hématopoïétiques dans la *production* de ces opsonines.

III. — Pour concilier ces deux concepts en apparence contradictoires, nous proposons *la théorie suivante.*

Les opsonines *existent dans le plasma en un certain état primitif vague, indéterminé, analogue* AUX PROFERMENTS ; *dans cet état elles résultent probablement d'une sécrétion active et permanente des* ENDOTHÉLIUMS VASCULAIRES. *A l'état normal, une faible partie serait seule susceptible d'être transformée en opsonine vraie : et elle ne le serait encore que d'une manière très peu stable, très variable suivant les sujets, le moment de la journée, etc.* (opsonine du sérum normal).

Au contraire, au cours d'une infection, d'une vaccination, d'une immunisation, sous l'influence de substances spéciales venues, surtout des organes hématopoïétiques en hyperfonction, et peut-être aussi d'autres organes, le FOIE EN PARTICULIER, *le corps thyroïde* (*Marbé*), CES PROFERMENTS, *cette pro-opsonine, se transformeraient en opsonines vraies telles que nous les connaissons* (opsonines des immunsérums).

Il se passerait là quelque chose d'analogue aux actions réciproques de la kinase, de l'entérokinase, de la sécrétine, sur l'activité du suc intestinal et du suc pancréatique.

Ainsi, une fois de plus est démontrée par la discussion de l'expérimentation et de la clinique, la complexité, l'intrication, le mystère même de la nature intime des faits biologiques que nous essayons de mesurer.

Spécificité des opsonines : diagnostic opsonique

Ce chapitre est en quelque sorte le trait d'union entre l'étude biologique des opsonines et l'application de la méthode opsonique à la clinique, entre la première partie et la deuxième partie de nos recherches.

Que faut-il entendre par spécificité des opsonines ?

Le terme, croyons-nous, est assez clair en lui-même pour ne pas nécessiter de longs développements. Dire que l'action des opsonines est spécifique, c'est dire qu'il peut exister différentes espèces d'opsonines, chacune d'elles n'ayant d'efficacité que sur une espèce correspondante de bactéries virulentes.

Les opsonines du sérum d'un animal immunisé contre le bacille d'Eberth, par exemple, n'auront un effet utile qu'envers ce bacille d'Eberth et seront sans effet pour le bacille de Koch ou tel autre microbe pathogène.

Cette notion de la spécificité des opsonines est du plus haut intérêt :

C'est d'elle que dépend en effet la valeur scientifique des faits cliniques que nous allons aborder.

Pour étudier par exemple les variations de la courbe de l'indice opsonique pendant l'évolution d'une maladie, et pour avoir le droit d'attribuer à ces constatations une certaine valeur scientifique, il est juste de supposer que les opsonines ainsi mesurées sont spécifiques, au moins relativement, sinon d'une manière étroite absolue.

Pour avoir le droit de *comparer* dans une même affection les résultats obtenus, les uns avec les autres, il est juste également de vérifier la part de spécificité qui revient à ces opsonines.

Enfin, pour être en mesure de créer le terme de *diagnostic opsonique*, il importe de préciser quelle est exactement cette spécificité des opsonines. Parler de diagnostic opsonique, c'est

émettre la possibilité de trancher un diagnostic, par la recherche des opsonines. Or, cette notion repose sur le fait suivant : si l'action des opsonines est spécifique, le sérum d'un individu atteint d'une affection microbienne déterminée aura un pouvoir opsonique électif envers ce germe et rien qu'envers ce germe. Il suffira de rechercher le pouvoir du sérum de ce malade vis-à-vis plusieurs bactéries : celle pour laquelle le pouvoir sera maximum sera justement celle incriminée chez le malade. Par exemple, le sérum d'un individu atteint de fièvre typhoïde contiendra des opsonines absolument spécifiques envers le bacille d'Eberth, et rien qu'envers le bacille d'Eberth, tandis que le sérum de tel autre malade, atteint d'une affection (granulie, méningite, pneumonie), dont les symptômes cliniques ressemblent à ceux d'une fièvre typhoïde, possèdera un sérum presque indifférent vis-à-vis le bacille d'Eberth; il suffira donc, pour affirmer ou infirmer le diagnostic de fièvre typhoïde, de mesurer le pouvoir opsonique de ces sérums pour le bacille d'Eberth, puis de calculer l'indice opsonique par rapport à un sérum normal : s'il s'agit de fièvre typhoïde, cet indice se rapprochera d'une valeur définie, que l'on connaîtra à l'avance et qui permettra d'affirmer le diagnostic.

D'une manière générale, il suffirait de connaître la valeur moyenne de l'indice opsonique dans telle ou telle affection, pour pouvoir conclure à telle ou telle maladie, toutes réserves faites, cela va sans dire, pour les cas où l'apparition de ces opsonines spécifiques serait retardée (comme cela peut arriver pour les agglutinines), et pour certaines variations de valeur de l'indice qu'il suffirait de bien connaître. Ce procédé constituerait le *diagnostic opsonique* qui prendrait place, en biologie, à côté du phénomène de la déviation du complément (phénomène de Bordet et Gengou) et de la séro-réaction, mais dont la valeur scientifique nous paraît entièrement subordonnée à la notion de spécificité des opsonines.

Nous allons essayer, par l'expérimentation, de contrôler cette spécifité des opsonines; nous verrons que cette expérimentation ne nous conduira pas à l'affirmation d'une spécifité étroite, absolue, des opsonines : elle nous laissera néanmoins supposer une spécificité relative.

Nous nous adresserons alors à la CLINIQUE, et abordant ainsi l'étude des faits cliniques relatifs aux opsonines, nous essaierons de rechercher si, spécialement en ce qui concerne la fièvre typhoïde, on n'est pas autorisé, dans certaines limites, à parler de diagnostic opsonique : cette étude précédera l'exposé de nos recherches sur les variations de l'indice opsonique au cours de la *fièvre* typhoïde.

Spécificité des opsonines. — Pour Wright et Douglas, l'action des opsonines est *nettement* et étroitement *spécifique*. Bülloch (*Lancet*, 1905, *ii*, 1603), arrive aux mêmes conclusions et affirme que les opsonines possèdent un haut degré de spécificité.

Dans une étude très documentée, Charles-E. Simon, Lamar Bispham (*Reprinted from the Journal of experimental Med.*, vol. VIII, 14 décembre 1906), formulent au contraire des conclusions nettement opposées.

Nous avons déjà publié (1) une série de recherches sur cette question, que nous allons résumer dans les pages suivantes.

Faits d'expérimentation

Charles-E. Simon rapporte l'expérience suivante de Bülloch qui paraît entraîner la conviction sur cette spécificité : le pouvoir opsonique d'un sérum a été recherché vis-à-vis des staphylocoques et du bacille de Koch. Ce sérum fut alors mélangé avec l'un ou l'autre de ces microbes, mis à l'étuve, puis centrifugé : on constata alors que le liquide surnageant était privé de ses opsonines pour le microbe avec lequel il avait été en contact, tandis qu'il retenait largement ses opsonines pour l'autre.

Charles-E. Simon répéta cette expérience de la manière suivante : Le pouvoir opsonique d'un sérum fut dosé pour le coli-bacille et le staphylocoque, puis le sérum fut mis en contact pendant quinze minutes à l'étuve avec des staphylocoques et centrifugé quinze minutes. Le liquide surnageant fut examiné à nouveau vis-à-vis le coli-bacille et le staphylocoque. La con-

1. Milhit. « Spécificité des opsonines ; diagnostic opsonique en particulier dans la fièvre typhoïde ». *Arch. de Méd. Exp.*, juillet 1908, n° 4.

clusion fut la suivante. « L'extinction du pouvoir opsonique pour les deux microbes a marché de pair, alors que l'on n'avait cependant émulsionné qu'un seul bacille. »

Nous avons nous-mêmes répété deux fois cette expérience en nous servant parallèlement d'un sérum normal et du sérum d'un typhique riche en opsonines.

La recherche du pouvoir opsonique de ces deux sérums fut pratiquée et pour une émulsion d'Eberth et pour une émulsion de staphylocoques, âgées toutes les deux de vingt heures. Les résultats furent les suivants :

Sérum normal	Vis-à-vis Eberth.....	1,16
	— staphylocoque.	3,60
Sérum typhique	Vis-à-vis Eberth.....	5,40[1]
	— staphylocoque.	5,40[1]

Une anse d'un fil de platine chargée de culture de staphylocoques fut alors émulsionnée dans le sérum normal, le tout mis vingt minutes à l'étuve et centrifugé vingt minutes : cette manœuvre fut répétée pour les deux sérums alternativement avec le staphylocoque et l'Eberth. Le pouvoir opsonique de ces sérums ainsi traités fut alors recherché en fonction de l'un et de l'autre de ces microbes.

Sérum normal		Sérum normal + une anse de culture de staphylocoques vingt minutes à l'étuve et centrifugé	Sérum normal + une anse d'Eberth, etc...	Sérum typhique natif.	Sérum typhique + une anse de staphylocoques	Sérum typhique + une anse de culture d'Eberth.
Vis-à-vis le staphylocoque	3,60	1,20	1,80	5,40	2,40	3,80
Vis-à-vis l'Eb.	1,16	0,80	0,80	5,40	3,50	2,06

1. Ne pas conclure de l'identité de ces deux chiffres à une indifférence du sérum typhique pour l'un ou l'autre de ces microbes, car si au lieu d'envisager le seul pouvoir opsonique on calcule l'indice, on le trouve de 1,6 pour le staphylocoque et de 4 pour l'Eberth.

Cette expérience, comme celle de Charles-E. Simon, nous amène à conclure que l'extinction du pouvoir opsonique a presque marché de pair pour l'un et l'autre microbe, quel que soit le bacille émulsionné.

Mais pour être absolument concluante, cette expérience manque d'une précision absolue : il est difficile d'apprécier la quantité de colonies microbiennes, répondant à une anse de platine et l'on peut objecter que notre émulsion de staphylocoques était proportionnellement plus concentrée que celle d'Eberth. Aussi avons-nous recommencé en partie cette expérience de la façon suivante. On a préparé des cultures de staphylocoques et d'Eberth, puis les colonies ont été raclées et on a pesé respectivement 1/2 centigramme, 1 centigramme et 1 centigramme et demi de chacun de ces microbes. Le pouvoir opsonique d'un sérum de typhique a ensuite été calculé et a donné les résultats suivants :

Pouvoir opsonique.	Vis-à-vis Eberth.	4,69
	— staphylocoques . . .	10,33

Il fut fait différentes parts égales (60 gouttes) de ce sérum, chacune fut traitée avec les microbes pesés et émulsionnés : puis mise à l'étuve vingt minutes, centrifugée : pour chacune d'elles ensuite le pouvoir opsonique fut recherché vis-à-vis l'Eberth et le staphylocoque. Cette expérience est résumée dans le tableau suivant :

Sérum typhique.....	Vis-à-vis Eberth.....	4,69
	— staphylocoques	10,33
60 gouttes sérum typhiques émulsionnées		
Avec 1/2 centigr. Eberth.....	Vis-à-vis Eberth.....	3,38
	— staphylocoques.	8,10
Avec 1 centigr. Eberth.....	Vis-à-vis Eberth	2,07
	— staphylocoques.	4,12
Avec 1 centigr. 1/2 Eberth.....	Vis-à-vis Eberth	1,10
	— staphylocoques.	2,40
Avec 1/2 cent. staphylocoques.	Vis-à-vis Eberth.....	3,46
	— staphylocoques.	6,60
Avec 1 centigr. staphylocoques.	Vis-à-vis Eberth.....	2,05
	— staphylocoques.	3,72
Avec 1 cent. 1/2 staphylocoques.	Vis-à-vis Eberth.....	1,34
	— staphylocoques.	2,00

Il résulte de cette expérience que l'extinction du pouvoir opsonique a marché assez exactement de pair pour l'un et l'autre des microbes employés, quel que soit le microbe émulsionné. Et cependant ce sérum provenait d'un malade à la période de convalescence, c'est à-dire présentant toutes les conditions requises, pour contenir des opsonines spécifiques. Expérimentalement donc, nous ne vérifions pas absolument les affirmations de Bülloch et nous sommes obligés de faire des réserves sur la spécificité étroite, absolue, des opsonines (1).

Dans une deuxième catégorie d'expériences tendant à prouver la spécificité des opsonines, Bülloch montre qu'une injection de tuberculine à un animal tuberculeux, augmente le pouvoir opsonique du sérum vis-à-vis le bacille de Koch, et le laisse indifférent pour le staphylocoque : nous n'avons pas répété cette expérience : mais en étudiant les variations de l'indice, dans la fièvre typhoïde traitée par le sérum de M. Chantemesse, nous nous sommes placés en quelque sorte dans des conditions un peu analogues, au moins en ce qui concerne l'esprit de l'expérience ; or, il suffira de se rapporter aux courbes présentées par M. Chantemesse au Congrès de Berlin de 1907, et reproduites plus loin, pour y constater fréquemment, dans les jours qui suivent l'injection, une élévation très notable de l'indice opsonique en fonction du bacille d'Eberth, ce qui indique bien une action spécifique. Nous n'avons jamais trouvé d'ailleurs d'élévation parallèle pour un microbe quelconque, dans le même sérum.

---

1. Notons cette richesse en opsonine, pour le staphylocoque, chez un malade ne présentant aucune lésion à staphylocoques, mais ajoutons que cette constatation n'enlève aucune valeur à ce que nous avons dit de l'indifférence relative du sérum des typhiques vis-à-vis d'autres microbes. Dans le cas présent un sérum normal avait pour cette émulsion de staphylocoques un pouvoir supérieur à 4, ce qui donnait un indice légèrement supérieur à 2, tandis que ce même sérum normal n'avait qu'un pouvoir à peu près égal à 1 pour l'Eberth, ce qui faisait un indice supérieur à 4 pour l'Eberth. C'est donc l'indice opsonique qui a une valeur et non un pourcentage quelconque établi vis-à-vis d'un bacille.

Il est vrai que l'on peut critiquer le fond même de cette expérience : nous avons montré en effet que, se comportant comme les ferments, les opsonines pouvaient purement et simplement se *fixer* sur les corps microbiens, comme sur un simple corps étranger (nous avons montré qu'elles se fixaient ainsi sur la poudre de charbon, le blanc d'œuf coagulé), qu'il ne s'agissait pas là d'une fixation spécifique, mais d'une simple imprégnation indifférente, par contact, ce qui enlève un peu de valeur à la rigueur et de l'expérience, et des conclusions.

A cet argument, Charles-E. Simon objecte que, dans de telles expériences, le sérum examiné est profondément modifié, que « le mécanisme d'immunisation des corps est mis en activité, et que d'autres facteurs peuvent être mis en cause » ; il croit à la possibilité d'une autre substance, ou tout au moins d'un autre facteur variable. Cette critique ne nous paraît pas sans appel, car, pourquoi ne pas admettre que les modifications survenues dans le sérum ne sont pas dues précisément à ces opsonines spécifiques ?

Charles-E. Simon, enfin, pour nier d'une manière plus complète encore la spécificité des opsonines, s'appuie sur le fait qu'il a trouvé une exagération considérable du pouvoir opsonique pour le staphylocoque dans des cas où il n'y avait manifestement aucune infection staphylococcique : par exemple, dans une cirrhose syphilitique du foie, dans un carcinome généralisé, dans un sarcome mélanique.

Nous avons trouvé nous-mêmes très souvent, chez des individus normaux, un pouvoir opsonique élevé pour le staphylocoque : mais à cause de la banalité de ce germe, de son faible degré de virulence, cet argument perd, croyons-nous, une partie de sa valeur.

Il a été institué un troisième groupe d'expériences qui, par leur répétition, pourraient peut-être permettre d'élucider la question. Deux animaux (lapins) de même poids, ont été inoculés l'un avec une culture de staphylocoques, l'autre avec une culture d'Eberth, après que l'on eût, toutefois, précédemment recherché leur pouvoir opsonique pour le bacille d'Eberth. La variation de ce pouvoir a été suivie dans les jours suivants, l'augmentation pour le bacille d'Eberth fut très modérée chez le lapin inoculé avec le staphylocoque ; elle fut considérable au contraire chez le lapin inoculé avec le bacille d'Eberth.

Nous avons renouvelé plusieurs fois cette expérience qui nous paraissait assez démonstrative ; Chaque fois il nous parut se vérifier que les opsonines, chez un animal injecté, étaient surtout élevées pour le bacille injecté.

En résumé, ces faits d'expérimentation, s'ils ne nous permettent pas de conclure à une spécificité étroite, absolue, ne nous conduisent pas non plus au rejet d'une spécificité relative.

Adressons-nous maintenant à la clinique, et voyons s'il est possible au nom même des faits cliniques constatés, d'arriver à une opinion sur la spécificité des opsonines.

Deuxième Partie

CONSTATATIONS CLINIQUES

CHAPITRE PREMIER

1° La valeur opsonique du sérum d'individus normaux pour le bacille d'Eberth, a tout d'abord été recherchée chez plus de cent personnes : cette valeur est assez variable suivant l'âge de la culture employée, et suivant la richesse de l'émulsion : elle oscille entre 0,80 et 1,40. D'où la *nécessité absolue*, pour chaque nouvelle estimation de l'indice chez un malade, de calculer le pouvoir opsonique d'un sérum normal pour l'émulsion employée. Cette expérience de contrôle est absolument indispensable ;

2° Puis nous avons établi la valeur de l'*indice* opsonique, pour le bacille d'Eberth, chez un grand nombre de typhiques, avec séro-réaction positive, dans les douze premiers jours de l'invasion (apparition de taches rosées) ;

3° Cet indice a été calculé, toujours vis-à-vis le bacille d'Eberth, chez un certain nombre de malades se présentant cliniquement comme des typhiques, mais n'ayant pas encore le séro-diagnostic, celui-ci n'étant apparu que plus tard ;

4° Cette valeur, toujours pour le bacille d'Eberth, a été recherchée également chez un certain nombre de malades fébriles, n'ayant pas la fièvre typhoïde (érysipèle, scarlatine, rougeole, variole, pneumonie, etc.) ;

5° Enfin, à titre d'expérience de contrôle, la valeur de l'indice opsonique a été calculée chez quelques typhiques vis-à-vis certains microbes autres que le bacille d'Eberth (paratyphiques, staphylocoques, dysentériques).

PREMIER GROUPE DE FAITS

Malades ayant présenté le séro-diagnostic positif dans les quinze premiers jours de leur fièvre typhoïde

Nous avons classé ces malades d'après la valeur de leur indice pour le bacille d'Eberth. Nous rappelons que cet indice est un rapport : RAPPORT du pouvoir phagocytaire, vis-à-vis le bacille d'Eberth, du *sérum* à étudier, *à celui du sérum d'un individu sain*, pour le même bacille, l'émulsion microbienne étant la même dans les deux cas.

Sexe	Noms	Forme de la maladie	Indice pour le bacille d'Eberth
Homme	Klei	grave	3,15
Femme	J. Delva.	légère	2,31
Homme	Vall. L.	grave	2,76
Femme	Bouch. Gab.	légère	2,94
Femme	Baugas-Marie	moyenne	2,39
Femme	Bea Louis	moyenne	2,37
Femme	Infirmière	moyenne	2,21
Homme	Jou. Edmond	moyenne	2,15
Femme	Filip.	grave	2,04
Femme	Papill. Berthe	moyenne	2,06
Femme	Dum. Caral	moyenne	2,03
Femme	Mugo Marth.	moyenne	2,30
Femme	Puch. Louise	moyenne	1,90
Femme	Coupé Marie	moyenne	1,82
Homme	Cav. J.	moyenne	1,85
Homme	Cout. Franc.	moyenne	1,70
Homme	Fournier	moyenne	1,60
Homme	Floq.	grave	1,43
Femme	Font. Hélène	grave	1,40
Homme	Halleux	assez grave	1,35
Homme	Lav. Louis	assez grave	1.10
		quatre jours plus tard	1,70
H. enfant	Montaigne	assez grave	0,95
		huit jours plus tard	2,35
Homme	Chaill.	moyenne	2,66
Homme	Pata. Alfred	légère	2,60
Femme	Houillé Marie	grave	2,76
Homme	Schonack.	moyenne	2,76
Homme	Lec. Georges	moyenne	2,36
Homme	Vitr. Victor	moyenne	2,15
Homme	Hoolun. Yens.	grave	2,12
Femme	Carr. Félicie	assez grave	2,24
Homme	Kieff.	grave	2,06
Homme	Krumholtz	gr. et rechute	2,12
Homme	Tartr.	moyenne	1,95

Sexe	Noms	Forme de la maladie	Indice pour le bacille d'Eberth
Femme	Duc. Mar.	moyenne	1,93
Femme	Mar. Marie	très grave	1,80
Homme	Ruet. Ch.	légère	1,61
Femme	Maubl. Odette	moyenne	1,72
H. enf. 14 ans	Barbera	moyenne	1,80
Homme	Gabr. Augustin	légère rech.	1,85
Femme	Bader	moyenne	1,60
Homme	Decau.	assez grave	1,63
H. enf. 14 ans	Catr.	grave	1,61
H. enf. 12 ans	Lab.	moyenne	1,40
F. fill. 11 ans	Raill. Suz.	moyenne	1,10
		six jours plus tard,	1.60

Soit en résumé : un indice atteignant ou dépassant 2, dans une proportion de 22 sur 44 malades, soit 0, 50 0/0 ; ou encore un indice supérieur à 1,20, dans une proportion de 33 sur 44 malades soit 0,75 0/0.

Deuxième groupe de faits

Malades n'ayant pas, à leur entrée à l'hôpital, le séro-diagnostic positif, mais se présentant néanmoins cliniquement comme des fièvres typhoïdes, chez lesquels d'ailleurs le séro diagnostic est devenu positif plus tardivement ;

Sexe	Noms	Date	Val. de l'index p. le bac. d'Eb.	Séro diag.	Forme de la maladie
Homme	Bond. Em.	13 nov. 1907	1.80. .	négatif	moyenne
		18 nov. 1907	2.80. .	négatif POSITIF le 20	
Homme	Bri.	14 nov. 1907	3.83. .	négatif POSITIF le 19	lég. avec rech. gr.
Homme	Mach. Paul	30 nov. 1907	2.45. .	négatif POSITIF 5 j. plus tard	légère
Femme	Déliz	23 nov. 1907	1.34. .	négatif	*traînante*
		4 déc. 1907	2.20. .	négatif	
		6 déc. 1907	2.80. .	POSITIF	
H. enf. 15 ans	Etiév.	12 déc. 1907	1.80. .	négatif	moyenne
		16 déc. 1907	2.50. .	POSITIF	
H. Meun.	Gaston	3 fév. 1908	2.73. .	négatif	moyenne
		12 fév. 1908		POSITIF	

Ces quelques faits établissent la progression de la valeur de l'indice, ou son état stationnaire assez élevé, caractères sur l'im-

portance desquels nous aurons à revenir. Ils montrent également dans quelques cas la précession sur le séro-diagnostic, de l'indice opsonique spécifique pour le bacille d'Eberth.

Troisième groupe de faits

Valeur de l'indice opsonique vis-à-vis le bacille d'Eberth chez des malades fébriles n'ayant pas la fièvre typhoïde.

Nature de la maladie	N° du lit	Valeur de l'indice pour le bacille d'Eberth
—	—	—
Erysipèles observés dans le service de M. Milian, au Bastion 29	47	0,60
	9	0,82
	8	0,95
	43	0,82
	30	0,84
	32	0,95
	65	0,80
	51	1
	31	1
	49	1,05
	82	1,10
	85	1,20
	37	1,29
	77	1,32
	46	1,40
	80	1,61
	45	1,67
	32	*2,14* (1)
	41	*2,21* (1)
	44	*2,76* (1)
	40	1,50

1. Ces trois derniers malades n'avaient pas eu antérieurement la fièvre typhoïde mais avaient une forme d'érysipèle extrêmement grave avec hyperthermie. Un deuxième examen fait quelques jours plus tard montra un abaissement de la valeur de l'indice.

Nature de la maladie	N° du lit et nom du malade	Valeur de l'indice pour le bacille d'Eberth
Méningite tuberculeuse.	Gras. André.	1,10
Granulie.	Mart. L.	2 (1)
Tub. pulmonaire chronique.	Garn.	0,70
	Chab. Em. (fièvre).	0,98
Grippe.	Chal. Ch.	1,10
	Fouch. Ad.	0,78
	Ch. Des.	1,27
	Fay. R.	1,10
Angine phlegmoneuse à streptocoques.	»	1,10
Angine phlegmoneuse à staphylocoques.	»	1,20
Angine herpétique.		1
Entérocolite aiguë.		0,90
Pneumonie.		0,70
Purpura.		0,80
Rougeoles observées à l'hôpital Claude Bernard, salle Proust.	N° 31, femme.	0,98
	N° 11, homme.	0,93
	Enfants Marc. Fr.	0,82
	Paill. Georg.	0.80
	Sen. G.	0,90
	Paill. Em.	1,09
	M. Suz,	1,11
	Gay. G.	1,27
	Bert. Eug.	1,70
Scarlatines	N° 10	1,10
	15	1,20
	4	1,40
Varioles.	Femmes, n° 8	0,80
	11	0,90
	Homme.	1

1. Il nous a été impossible de savoir si ce malade avait eu antérieurement la fièvre typhoïde.

Soit en résumé 24 malades ayant un indice pour le bacille d'Eberth égal ou inférieur à 1, sur 50 malades examinés, soit une proportion de 0,48 0/0 et seulement 10 0/0 ayant *au-dessus* de 1,50.

4° *Expérience de contrôle.* — Mesure de l'indice opsonique du sérum de typhiques, pour *d'autres microbes* que le bacille d'Eberth.

Ici nous devons encore insister sur ce fait que nous parlons d'indice et non de pouvoir phagocytaire ; en effet mis au contact de staphylocoques par exemple, certains sérums de typhiques paraissent phagocyter considérablement ; mais il en est de même pour le sérum normal, ce qui donne en fin de compte un indice de valeur faible. Voici quelques résultats :

Sérum typhique	Valeur de l'indice	Microbes employés
Lec. Georges	*3,62*	*Eberth.*
—	0,80	Paratyphique Bryon-Kayser
—	1,14	id. Conradi.
Sérum Kl. (typhique).	*4,07*	*Eberth.*
—	1,6	Staphylocoques.
Houill.	*3,40*	*Eberth.*
—	1,86	Paratyphique Bryon-Kayser
—	1,52	id. Conradi.
—	1,96	id. Entériclis.
—	1,70	id. Rennes.
—	1,21	Dysentérie Chantemesse.
—	1,80	Staphylocoques.
Petite fille 5 ans	*2,95*	*Eberth.*
—	2	Staphylocoques.
—	1,46	Dysentérie.

Nous avons également eu l'occasion d'examiner le sérum d'une malade (Fleur. Mélanie), présentant une paratyphoïde. A aucun moment de la maladie il n'y eut pour le bacille d'Eberth un indice supérieur à 1,80, même au début de la convalescence, période qui correspond, comme l'a montré M. Chantemesse (1) au Congrès de Berlin, à une élévation assez cons-

1. Congrès de Berlin, 23 sept. 1907, *Bull. médical*, 25 sept. 1907 (Sérothérapie de la fièvre typhoïde, opsonisation anti-typhoïde).

tante de la valeur de l'indice. Il manque pour compléter la valeur de cette observation, la recherche, dans ce cas particulier, de la valeur de l'indice pour les paratyphiques.

Que conclure de cet ensemble de faits ?

D'une manière générale, les malades atteints de fièvre typhoïde ont un indice opsonique pour le bacille d'Eberth, notablement plus élevé que ceux atteints d'affections fébriles quelconques, et ceci dans une proportion plus que suffisante pour que cette méthode trouve un appui sérieux en ces constatations.

Néanmoins un certain nombre de restrictions s'imposent :

1° Nous avons vu certains typhiques présenter un indice de 1,50 et au-dessous, sans que rien cliniquement, ni l'âge du malade ni la gravité de l'affection puisse nous en donner l'explication ; peut-être en sont-ils encore à la « phase négative » ? Toutefois, si dans des cas analogues, on suit régulièrement la valeur de l'indice opsonique, on la voit en général se relever pendant les jours qui suivent, ce qui autorise alors une conclusion plus ferme.

2° Certains malades, non dothiénentériques, ont un indice parfois assez élevé ; nous l'avons trouvé dans l'érysipèle plusieurs fois au-dessus de 1,60, trois fois au-dessus de 2 ; 1,50 dans la scarlatine ; néanmoins la rareté de ces faits atténue un peu la rigueur de cet argument.

3° Enfin, il faut soigneusement rechercher, si le malade n'a pas eu antérieurement la fièvre typhoïde. Dans cet ordre d'idées nous tenons à signaler les deux faits suivants : Une malade (Gom. El.) entre, le 2 janvier 1908, au Bastion 29, présentant tous les symptômes cliniques d'une dothiénentérie, moins l'hypertrophie de la rate ; le séro-diagnostic est positif, l'indice opsonique est de 2,50, et atteint 6,50 le 13 janvier (chiffre très élevé et rarement observé).

Mais une diarrhée profuse s'installe dans les jours qui suivent, s'accompagnant d'hémorragies intestinales, et d'abaissement de la valeur de l'indice (1). La malade meurt, donnant

---

1. Nous verrons plus loin que dans la fièvre typhoïde l'hémorragie intestinale ne s'accompagne pas en général d'un abaissement de valeur de l'indice.

alors cliniquement l'impression d'une cholérique ou d'une dysentérique : c'est d'ailleurs ce dernier diagnostic que confirma l'autopsie, en montrant l'absence totale de lésions typhiques : il s'agissait d'une dysenterie bacillaire avec lésions caractéristiques du gros intestin : le sérum de la malade agglutinait rapidement au 1/100 une culture fraîche du bacille dysentérique de Chantemesse.

Une enquête permit alors d'apprendre que la malade avait eu la fièvre typhoïde un an auparavant, ce qui explique jusqu'à un certain point l'exaltation de ses opsonines pour le bacille d'Eberth. Disons enfin que le sérum de cette malade, prélevé le jour de la mort, donna et pour le bacille d'Eberth et pour le bacille dysentérique, un indice de 2,60, fait négatif de grosse valeur, contre la spécificité absolue des opsonines.

Le deuxième fait est le suivant : Dans un cas de fièvre puerpérale (Vern. Perge), on trouva le séro-diagnostic positif et un indice de 3,96 pour le bacille d'Eberth ; il fut possible de relever dans les antécédents de la malade une fièvre typhoïde datant de trois ans ; la culture du sang donna du streptocoque, et l'autopsie ne montra aucune lésion typhique.

Dans ce cas il s'agissait sans doute également, d'un réveil ou d'une exaltation spéciale des opsonines typhiques, phénomène analogue à la réapparition bien connue, des agglutinines.

CONCLUSIONS

Au point de vue de la question théorique pure de la spécificité des opsonines, nous concluons à la suite de toutes ces recherches, non à une spécificité étroite, absolue, mais à une spécificité relative. En ce qui concerne la valeur d'interprétation clinique des variations de l'indice opsonique constatées au cours de diverses affections, nous en concevons très bien, en raison de cette spécificité relative, et la réalité et la légitimité.

Relativement au *diagnostic opsonique de la fièvre typhoïde* nous admettons les *conclusions suivantes.*

Diagnostic opsonique dans la fièvre typhoïde

Cette méthode ne donne pas la CERTITUDE ABSOLUE, mais des présomptions très légitimes et souvent vérifiées.

Il faudra être prudent, et ne pas trop se hâter d'affirmer ou de nier tel ou tel diagnostic d'après le résultat obtenu, ce résultat n'étant qu'un argument de plus en faveur de telle ou telle hypothèse.

Les règles de ce diagnostic dans la fièvre typhoïde sont les suivantes :

I. — La constatation, chez un malade suspect de dothiénentérie et n'ayant pas eu antérieurement la fièvre typhoïde, d'un indice pour le bacille d'Eberth supérieur à 1,70, indice qui se *maintiendra* à ce chiffre ou même *s'accroîtra* dans les jours suivants, devra contribuer grandement à entraîner le diagnostic même en l'absence de séro-réaction.

II. — La constatation, plusieurs fois renouvelée, d'un indice opsonique inférieur à 1, même 1,20, pour le bacille d'Eberth, chez un malade, ressemblant quelque peu cliniquement à un typhique, est un argument de plus pour rejeter le diagnostic de fièvre typhoïde.

III. — La constatation d'un indice très élevé envers l'Eberth ne peut pas permettre de conclure catégoriquement dans tous les cas à l'existence d'une fièvre typhoïde, tant qu'une enquête spéciale, dans les cas où le malade ne peut fournir aucun renseignement, n'a pas appris si oui ou non le malade a eu antérieurement la fièvre typhoïde.

IV. — Si la valeur de l'indice est entre 1 et 1,60, il est difficile d'affirmer tel ou tel diagnostic. Dans ces cas, l'évolution de la valeur de l'indice, qui, nous le verrons, s'élève rapidement à 2, 1,70, seule, pourra nous renseigner.

V. — Enfin, comme en ce qui concerne les agglutinines, il pourra y avoir des réserves à faire au sujet d'opsonisation élective, d'opsonisation retardée : disons enfin que l'existence d'in-

dice opsonique élevé pour le bacille d'Eberth, chez des typhiques ne présentant pas encore l'agglutination, et la constatation d'indice faible, au contraire, chez des malades présentant cette agglutination, enlève une grosse valeur, à la critique qui consiste à subordonner absolument les opsonines, aux agglutinines.

CHAPITRE II

Applications de la méthode opsonique à la clinique

LES OPSONINES DANS LA FIÈVRE TYPHOIDE

Variations de l'indice opsonique au cours de la fièvre typhoïde (1)

Dans le service de M. le professeur Chantemesse, nous avons pu étudier ces variations de l'indice opsonique chez un grand nombre de malades : nous avons indiqué d'autre part, et nous n'y reviendrons pas, la technique dont nous nous étions servi ; ajoutons seulement les renseignements suivants : le sang des malades était prélevé le matin à 8 heures, et l'opsonisation faite aussitôt après (sérum pur, non dilué) : cet examen, pour chaque malade, était répété tous les jours au début, tous les deux ou trois jours dans le courant de la maladie. Si un incident survenait, l'examen était fait tous les jours ou même deux fois par vingt-quatre heures.

---

1. L'étude des variations de l'indice opsonique au cours de la fièvre typhoïde a déjà été ébauchée par quelques auteurs ; voici l'énumération de ces travaux : Hektoen et Ruediger. *Journ inf. diseases*, 1906.

Breton et Petit. Soc. de Biologie, 25 mai 1907.

Clark et Simonds (Study of typhoïd opsonins. *Journ. inf. diseases*, VI, 13, 1908).

MM. Breton et Petit ont eu le tort, croyons-nous, d'employer des leucocytes de cobaye pour étudier le pouvoir des sérums humains : les chiffres qu'ils ont obtenu ont une valeur trop faible, ces auteurs signalent toutefois : 1° l'indépendance du pouvoir agglutinant et des opsonines ; 2° une spécificité opsonique très relative.

Clark et Simonds indiquent des variations fort analogues à celles que nous avons observées sauf en ce qui concerne la convalescence, période pendant laquelle, contrairement à nos recherches, les auteurs ont trouvé une valeur faible de l'indice.

Ces malades étaient injectés, dès leur entrée à l'hôpital, ou peu de jours après, avec le sérum antityphique de M. Chantemesse. La plus grande partie de nos courbes se rattache donc à l'étude des variations de l'indice opsonique chez les typhiques, *traités par le sérum antityphique*. Nous allons, à titre de comparaison, étudier ces variations chez un certain nombre de malades, *non injectés*.

Notre étude commencera par ces cas.

Nous avons jugé inutile de rapporter l'observation complète des malades, nous contentant de signaler, au fur et à mesure, les particularités cliniques de l'évolution de la maladie.

Sur les courbes représentant les variations de cet indice, nous avons fait figurer en traits pleins la température. Cette température représente la moyenne des huit températures des vingt-quatre heures qui ont précédé la prise de sang. La courbe de l'indice est représentée par des cercles reliés par des traits pleins.

Après avoir ainsi reproduit un certain nombre de courbes résumant les différentes valeurs de cet indice, nous en schématiserons d'une manière générale les variations. Puis nous étudierons les faits plus en détail, essayant de préciser certaines particularités qui nous ont paru intéressantes, spécialement les variations à l'occasion d'une complication, d'une rechute, etc.

Fièvre typhoïde traitée par les bains froids, sans sérum et évoluant sans complications

La courbe suivante (n° 1) représente une forme moyenne, évoluant sans complications.

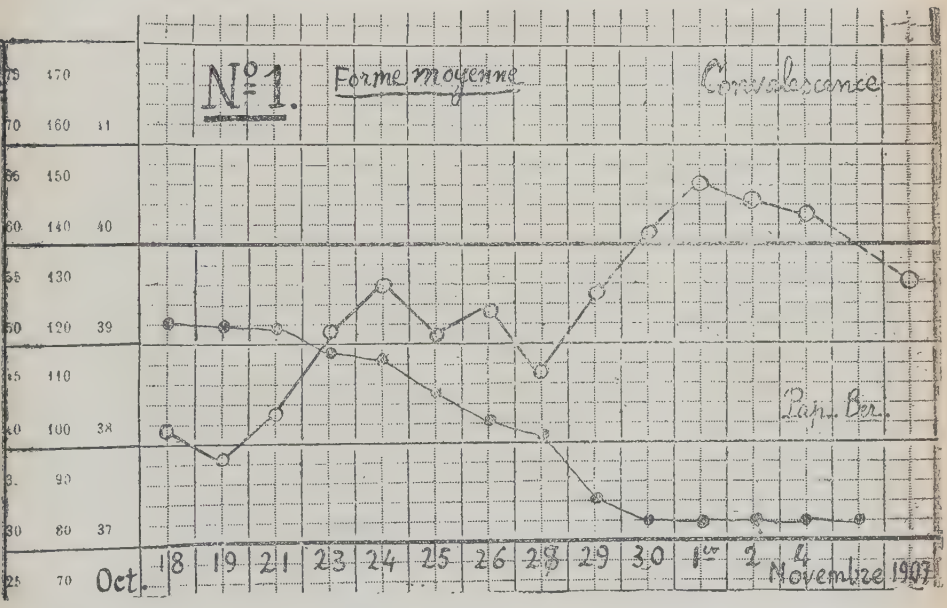
Nous avons fréquemment retrouvé réalisée cette courbe, qui nous paraît représenter, assez exactement, le schéma de l'indice opsonique au cours d'une fièvre typhoïde normale, évoluant sans complication.

La valeur de l'indice s'élève *petit à petit* pendant toute la période fébrile, un peu plus rapidement enfin au moment où la température commence à baisser,

Pendant que la température oscille entre 37° 5 et 38° 5, la

valeur de l'indice subit quelques fluctuations : c'est, si l'on veut, le stade amphibole de cette valeur.

Puis, au moment où la température tend vers 37 degrés, c'est-à-dire où la guérison s'installe, l'indice reprend sa progression, atteint à ce moment sa plus haute valeur et décroît très lentement pendant la convalescence, tout en gardant cependant une valeur assez élevée. Cette courbe est fréquemment modifiée par l'apparition de complications. Dans une de nos observations, il s'agissait d'un homme très solidement bâti (Kl. Fr.) qui fit une fièvre typhoïde d'allure moyenne, mais très prolongée, traduisant une septicémie éberthienne persistante (culture



du sang positive plus d'un mois après le début de l'affection). L'indice opsonique atteignit une valeur énorme (5,20) à l'occasion de complications pleuro-pulmonaires (pleurésie à bacilles d'Eberth) sans élévation de température. Nouvelle élévation de cet indice à l'occasion d'une périostite du tibia gauche et persistance longue de cet indice très élevé (4,10). Nous sommes en droit de nous demander si la valeur énorme de cet indice, un des plus forts observés, ne relève pas, précisément, de cette septicémie éberthienne ou de ces diverses localisations éberthiennes, qui ont

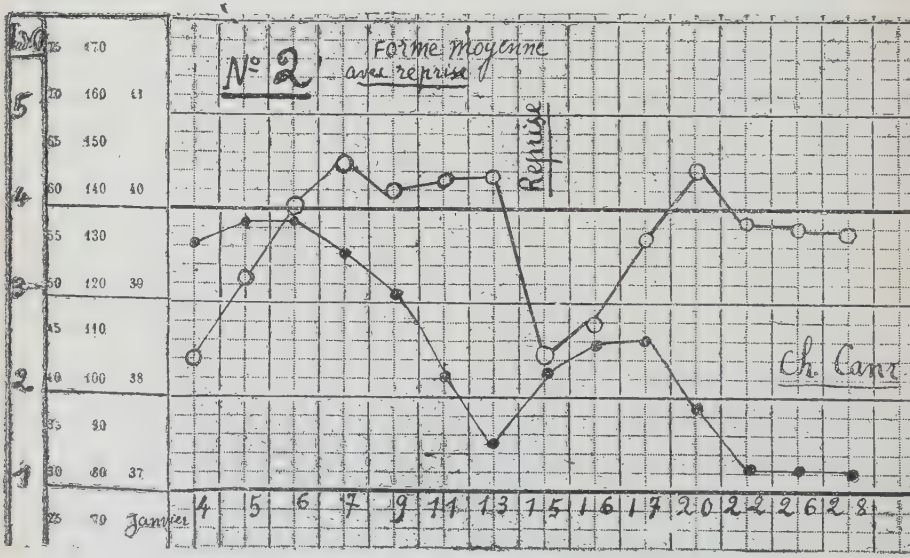
pu devenir le point de départ d'une série d'inoculations successives, provoquant la formation de nouvelles opsonines.

Par contre, une autre de nos malades (D...), tout en présentant une complication pulmonaire (infarctus pulmonaire avec élévation très intense de la température), eut, au contraire, à la suite de cette complication, un indice opsonique très abaissé (2,80 1,70).

Dans la forme précédente il s'agissait de complications de nature éberthienne réalisant sans doute des inoculations successives ; ici, de germes infectieux secondaires, impropres à provoquer l'apparition d'opsonines spécifiques.

Empiétant un peu sur des discussions qui trouveront ailleurs leur place, signalons cependant, dans ce cas, l'ascension de la valeur de l'indice avant l'apparition de l'agglutination et au contraire la diminution de cet indice alors que l'agglutination est très forte (séro-négatif, indice pour l'Eberth = 2,80), fait qui prouve l'indépendance de ces deux propriétés du sérum.

Une particularité intéressante des variations de cet indice



s'observe à l'occasion des reprises au cours d'une fièvre typhoïde. La courbe (ci-dessus) n° 2 nous en fournit un bel exemple.

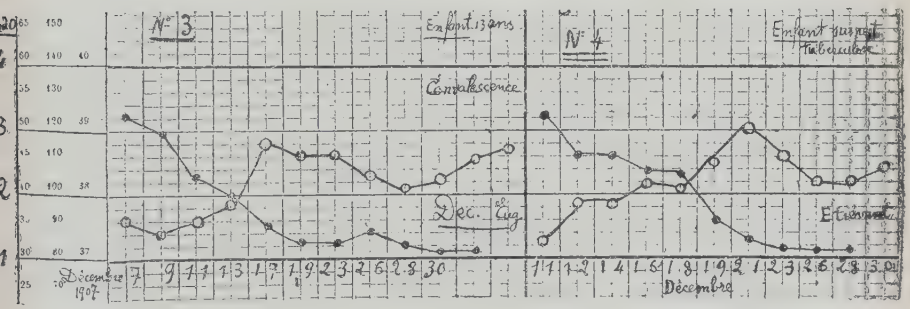
Chez un autre malade (G... C.) nous avons successivement observé deux reprises avec deux variations de l'indice (diminu-

tion très notable de cette valeur) qui sont dans ces cas parallèles aux variations de la température (2.60-1.50) (3-1,70).

Au moment de la convalescence, la valeur de l'indice s'élève assez franchement ; cependant, cette ascension peut ne pas se produire comme nous avons pu le constater un certain nombre de fois.

Alors la courbe répond au schéma que Hektoën, Clark et Simonds ont indiqué comme le plus fréquent.

Les courbes suivantes (nos 3 et 4) représentent des formes de moyenne intensité, plutôt traînantes, sans grande réaction fébrile, évoluant chez deux enfants.



Elles indiquent le peu de variations de l'indice, et permettent de constater une valeur générale faible de l'indice opsonique au cours de la fièvre typhoïde des enfants.

M. Gaudeau étudiant le pouvoir hémolytique du sérum des enfants, signale également un pouvoir plus faible chez l'enfant que chez l'adulte.

Maintenant que nous connaissons les variations de l'indice opsonique au cours des fièvres typhoïdes traitées par les bains, sans sérum, nous pouvons commencer l'étude comparative de celles constatées chez les malades soumis à la sérothérapie antityphique. Ces observations nous permettront : 1° de contrôler l'effet du sérum antityphique et d'en interpréter l'action ; 2° de signaler d'autres particularités relatives à l'indice opsonique.

Valeur de l'indice opsonique dans les fièvres typhoïdes traitées par le sérum antityphique de M. Chantemesse

Parmi les nombreux malades chez lesquels nous avons recherché la valeur de l'indice opsonique, nous avons choisi pour en rapporter la courbe, ceux qui nous ont paru individualiser le mieux certains types, le plus souvent rencontrés.

Il va sans dire que nous n'avons nullement la prétention d'enfermer en une formule unique, les variations diverses que peut subir l'indice opsonique au cours d'une fièvre typhoïde. Des variations intermittentes, passagères, peuvent se produire ; elles coïncident parfois avec une poussée fébrile, due soit à une nouvelle réinoculation par le bacille d'Eberth, cultivant et pullulant dans la vésicule biliaire d'où il peut repartir pour ensemencer à nouveau l'organisme, soit à l'apparition de troubles gastro-intestinaux dont le retentissement sur les opsonines est considérable, etc.

Parfois ces variations passagères sont inexplicables, qu'il s'agisse, suivant les cas, de surproduction d'opsonine, ou de destruction plus considérable de ces opsonines.

Ce qui importe d'ailleurs, c'est l'ensemble de la courbe et spécialement quelques variations constantes, qui en raison même de cette constance, acquièrent une certaine valeur.

Il est possible d'individualiser une série de types, suivant la *forme* de la *fièvre typhoïde*.

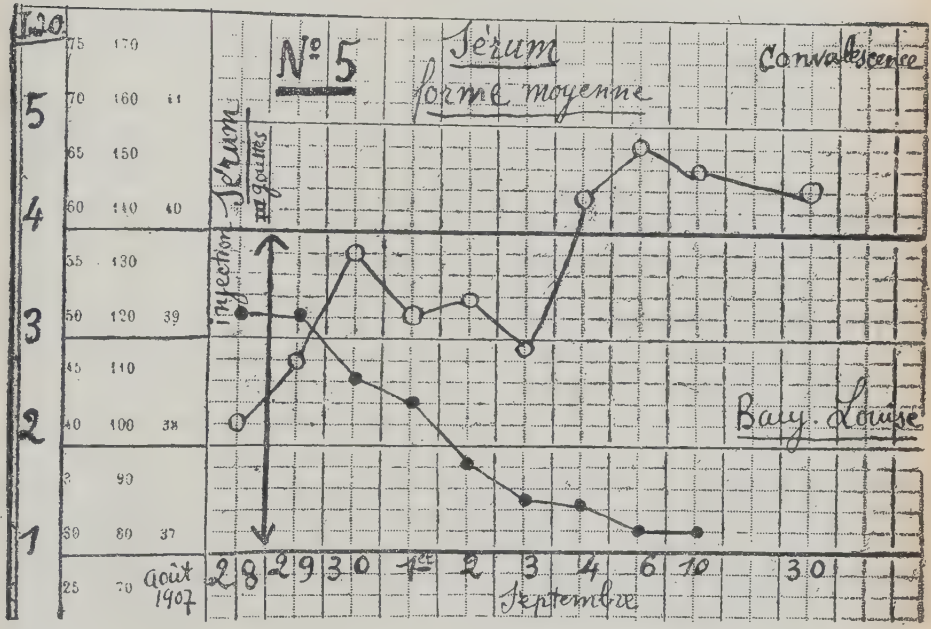
1° *Formes bénignes*. — Un type des variations de l'indice que nous avons souvent rencontré et qui paraît assez constant, est celui que l'on observe dans des fièvres typhoïdes, assez franches d'allure au début, qui tournent court et guérissent rapidement, durant au plus trois semaines.

Dans ces cas, la valeur de l'indice, après l'injection de sérum, s'élève progressivement pendant quelques jours, puis s'accroît tout à coup brusquement, au moment où la température, au contraire, s'abaisse, et atteint des valeurs très élevées au moment de l'apyrexie et de la convalescence.

Ces indices élevés se maintiennent longtemps tels et ne s'observent guère aussi élevés que dans ces formes bénignes. (Il

faut rappeler que ces résultats ont été obtenus avec des sérums non dilués.)

2° *Formes moyennes.* — Intermédiaires aux formes bénignes et aux formes graves, se placent les formes moyennes, bien représentées comme modifications des valeurs de l'indice par la courbe n° 5.



La deuxième partie de la courbe rappelle parfaitement la fin de la courbe des formes légères.

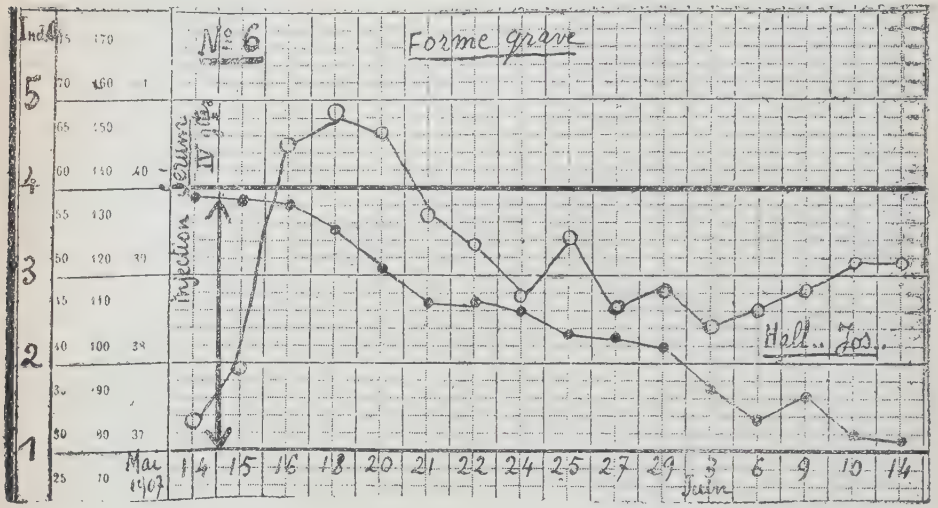
Le début de la courbe, avec élévation assez rapide de la valeur de l'indice, se rapproche, comme nous le verrons, de celui des formes graves.

3° *Formes graves.* — Il est plus difficile de bien schématiser la courbe de l'indice, dans les formes graves, où se rencontrent de multiples causes, susceptibles de l'influencer et de modifier un peu son allure générale.

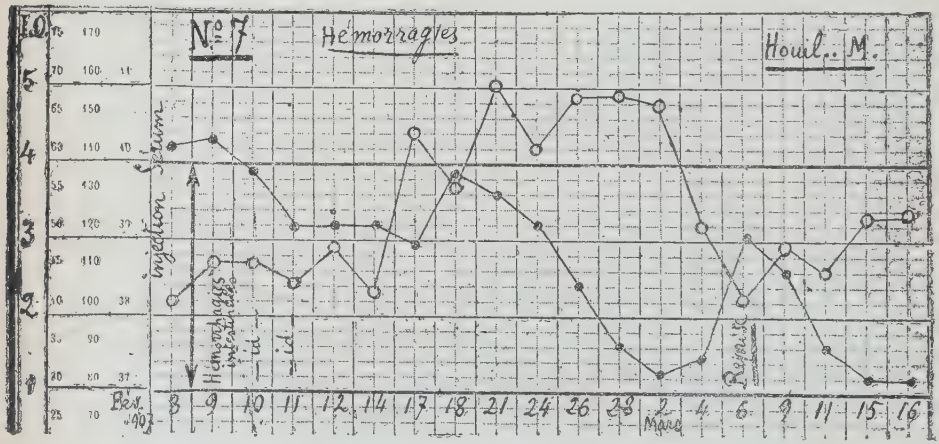
Nous avons reproduit dans le tableau n° 6 la courbe qui nous a paru traduire le mieux l'ensemble de ces variations.

Elévation brusque de la valeur de l'indice, à la suite de l'injection de sérum, élévation *très rapide* et très considérable

qui persiste six à huit jours, puis série d'oscillations, correspondant au stade amphibole et nouvelle petite élévation de la



valeur de cet indice au moment de la convalescence, ou, tout au moins, persistance *longue* d'un indice relativement élevé.



Cette courbe générale peut être très notablement influencée comme nous avons pu souvent le constater, par des phénomènes gastro-intestinaux, diarrhée en particulier, agissant peut-être par concentration sanguine, et par des phénomènes d'ordre nerveux, délire, etc... dont l'action sur les opsonines nous paraît difficile à expliquer.

Nous arrivons à ces conclusions sur le rôle des phénomènes nerveux surtout à cause de l'observation suivante.

Il s'agissait d'une femme (Fol. Mar.) qui, durant toute l'évolution de sa fièvre typhoïde, présenta des phénomènes nerveux extrêmement graves : délire, agitation extrême suivie de démence ayant persisté six mois ; l'indice opsonique de cette malade fut extrêmement irrégulier et variable pendant toute l'évolution de la fièvre.

Quelles que fussent les précautions prises dans la manipulation, les leucocytes employés étaient toujours attaqués, dégénérés, « vacuolisés » chaque fois qu'on les mettait en contact avec le sérum de cette malade. Pareil fait se rencontre quelquefois, pendant deux ou trois jours de suite chez un malade, mais ne persiste jamais aussi longtemps.

Lorsqu'il se présente, le résultat obtenu ne peut être tenu comme très certain. Il est néanmoins à signaler, car on est en droit de se demander s'il n'existait pas dans le sang de cette malade une substance qui, susceptible d'altérer *in vitro* les globules blancs, le fût bien plus encore d'altérer les cellules du cerveau, ce qui expliquerait l'intensité et la persistance relative des troubles cérébraux constatés.

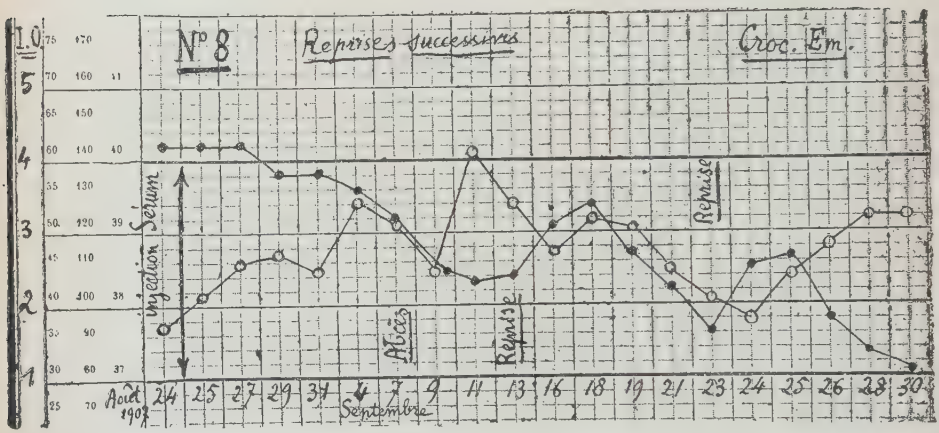
Ces phénomènes de vacuolisation, de dégénérescence des leucocytes sous l'influence de certains sérums, ont déjà été signalés depuis longtemps par Wright, et tous ceux qui s'occupent d'opsonisation ; ces auteurs n'ont pas cherché à en donner l'explication se contentant de les énumérer parmi les causes d'erreur possible, au cours des expériences.

Nous nous demandons s'il ne s'agit pas là de phénomènes analogues à ceux décrits par Eisenberg de Cracovie et sur lesquels nous avons déjà insisté.

Les variations de l'indice qui accompagnent les *reprises* de la fièvre, et celles qui accompagnent la *rechute*, sont parmi les plus intéressantes et méritent d'être particulièrement étudiées.

Indice opsonique et reprises dans la fièvre typhoïde

La courbe n° 8, (forme grave, compliquée d'abcès multiples), nous montre deux reprises de la température, s'accompagnant très exactement chaque fois, d'une chute de la valeur de l'indice. Nous verrons en étudiant la fièvre typhoïde expérimentale, ou les résultats obtenus par l'inoculation des vaccins de Wright, que l'inoculation du germe en expérience est suivie d'un abaissement de la valeur de l'*indice* pouvant aller quelquefois au-dessous de 1. C'est ce que Wright appelle la phase



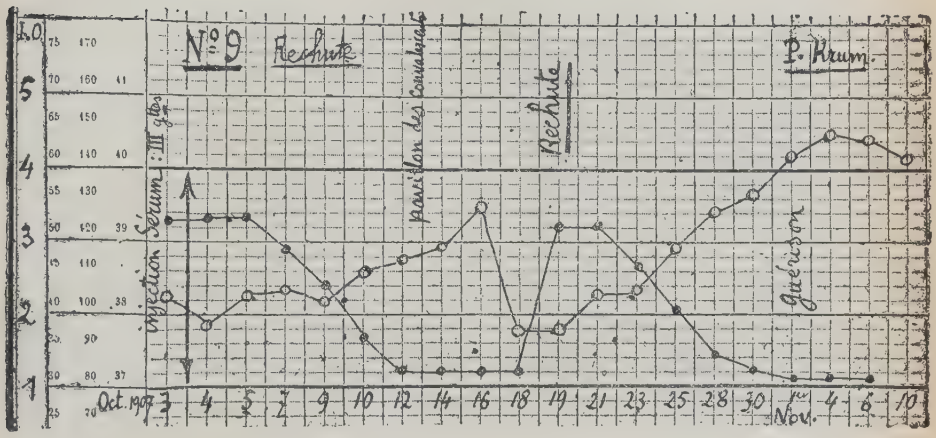
négative. Sans essayer d'expliquer le mécanisme intime de ce phénomène, on peut le rapprocher de celui constaté dans les reprises, qui traduisent, sans aucun doute, une nouvelle réinfection. A cette « auto-réinoculation » l'organisme répond par une « phase négative » relative, comme dans le cas d'inoculation ou de vaccination.

Rechute et indice opsonique

Dans le même ordre de faits rentre la constatation non moins intéressante que nous trouvons indiquée sur le tableau n° 9.

Il s'agit d'un malade ayant évolué suivant la forme bénigne. Il est guéri, apyrétique depuis trois jours avec un indice de 3,50,

il est au pavillon des convalescents. Or, le 18 octobre, la valeur de son indice passe de 3,50 à 1,90, et le soir même, le malade fait une rechute qui se comporte d'une manière générale comme une forme moyenne.



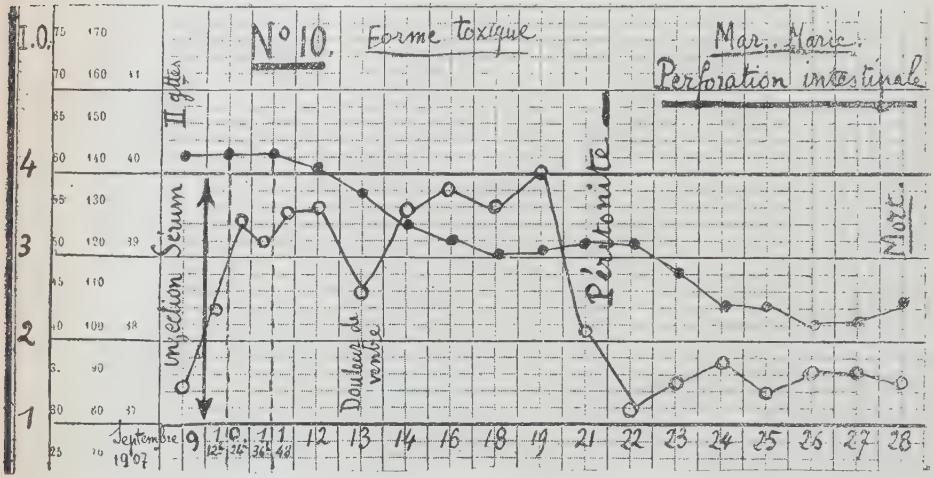
La chute de l'indice traduit la réinfection de l'organisme ; ces deux constatations, vérifiées à plusieurs reprises nous paraissent être parmi les particularités les plus constantes de l'indice opsonique au cours de la fièvre typhoïde.

Indice opsonique et perforations intestinales

Une modification, constante également et du plus haut intérêt, est celle que subit cet indice au cours des péritonites par perforation intestinale ; nous avons pu en réunir quatre cas, avec courbe complète de l'indice opsonique.

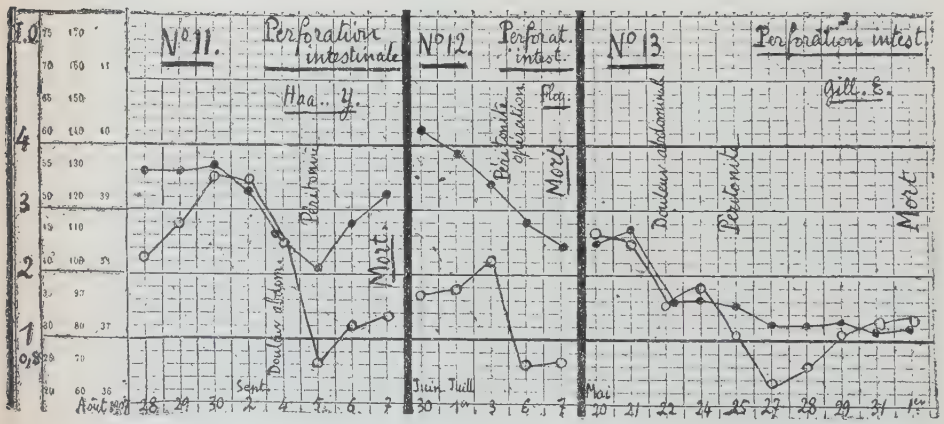
La courbe n° 10 représente les variations de l'indice, chez une femme atteinte d'une fièvre typhoïde extrêmement grave, hypertoxique, évoluant tout d'abord suivant le schéma que nous connaissons de la forme grave (n° 6). Le 19 septembre l'indice est 3,90. Le 21, coïncidant avec l'apparition d'une douleurde ventre, l'indice s'est abaissé brusquement à 2,1. Le lendemain, la

malade étant en péritonite, cet indice atteint presque 1. Il se relève un peu jusqu'au moment de la mort, mais ne dépasse pas 1,20.



Les courbes nos 11, 12, 13, rééditent en quelque sorte le schéma précédent.

Dans l'observation représentée par la courbe n° 11, la maladie s'annonçait comme devant évoluer suivant le type grave,



quand, coïncidant avec une douleur de ventre et des symptômes de péritonite, l'indice s'abaisse à 0,90, pour se relever petit à petit jusqu'à la mort, sans dépasser toutefois 1,30.

Dans les deux observations représentées par les nos 12 et 13, nous retrouvons ce même abaissement de valeur de l'indice coïncidant avec le début de la péritonite 0,80 dans un cas, 0,6 dans l'autre cas.

Le malade, dont les modifications subies par l'indice son représentées sur la courbe n_o 13, eut après sa perforation intestinale, une survie assez longue (*dix jours*) : l'indice calculé tous les jours ne s'éleva pas au delà de 1,60.

Nous croyons pouvoir rapprocher de ces faits, l'observation suivante :

Il s'agit d'un enfant de quatorze ans, entrant à l'hôpital avec un indice 0,90 qui est une rareté au début de la fièvre typhoïde ; i se plaignait à ce moment déjà de douleurs abdominales. Peut-être avait-il fait chez lui une ébauche de péritonite par propagation?

Quoi qu'il en soit, après l'injection de sérum, son indice se relève assez rapidement et atteint 3,40.

A ce moment se déclarent des phénomènes nets de perforation.

Douleurs de ventre, vomissements, disparition de la matité hépatique et chute brusque de l'indice, à 1,20.

Ce petit malade ne fut pas opéré ; il reçut fréquemment des injections de nucléinate de soude, dont l'action, sur le péritoine, l'épiploon, la leucocytose en général, est à l'heure actuelle parfaitement reconnue, et il guérit lentement, mais totalement.

La valeur de son indice opsonique ne s'est toutefois jamais élevée au delà de 1,40, même en pleine convalescence.

En résumé il nous semble très légitime de signaler cette chute brusque, brutale même, de l'indice opsonique, accompagnant le début de la réaction péritonéale, au cours d'une péritonite par propagation, ou consécutive à une perforation intestinale. Coïncidant avec des symptômes de péritonite, cet abaissement de l'indice atteignant 1 ou inférieur à 1, nous paraît être de la plus grande valeur et tout à fait digne d'être signalé.

S'il persiste, il acquiert une importance diagnostic considérable.

En cas de doute chez des typhiques accusant des douleurs abdominales et chez lesquels on se demandait, s'il y avait ou non, perforation intestinale, nous avons souvent cherché la

valeur de l'indice opsonique. Nous ne l'avons jamais trouvé abaissée, lorsqu'il s'agissait de coliques intestinales, contractions douloureuses, etc. Aussi nous croyons pouvoir ajouter cette modification de valeur de l'indice opsonique, aux signes connus de péritonite, dans la fièvre typhoïde ; nous ne disons pas signe de certitude absolue, mais symptôme de la plus haute valeur, qui vient renforcer ce que l'examen clinique, la numération des leucocytes, etc., permettent de constater.

Pouvons-nous essayer d'expliquer la pathogénie de cette disparition des opsonines au cours de la perforation intestinale ? Nous en serions réduits à de pures hypothèses, aussi préférons-nous ne pas insister et nous contenter de la simple constatation du fait que nous venons de *signaler*.

Indice opsonique et hémorragies intestinales

Les hémorragies intestinales ne nous paraissent pas influencer, ni immédiatement, ni quelques heures plus tard, la valeur de l'indice opsonique, ni la courbe générale de cet indice.

Nous ferons seulement la réserve suivante ; dès que se déclarait une hémorragie intestinale, nos malades absorbaient du chlorure de calcium ; or, nous avons déjà signalé l'action favorisante des sels de calcium, sur le mécanisme de l'opsonisation, et nous nous demandons si le chlorure de calcium absorbé par les malades, ne vient pas un peu modifier l'état des opsonines ; toutefois, des saignées abondantes, chez nos animaux inoculés, n'ont jamais abaissé la valeur de l'indice, tandis qu'elles faisaient diminuer notablement les agglutinines.

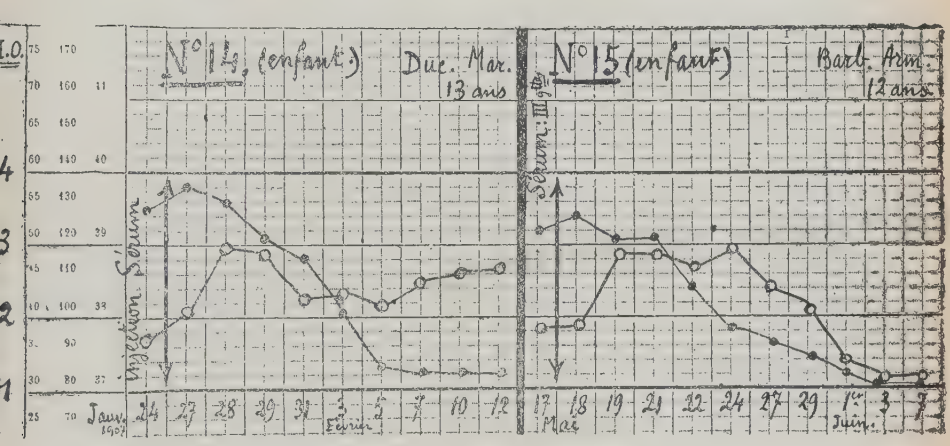
Indice opsonique et fièvre typhoïde des enfants

Nous avons réservé un chapitre spécial aux variations de l'indice opsonique dans la fièvre typhoïde chez les enfants, parce qu'il nous a semblé que les enfants avaient des réactions opsoniques, des oscillations de valeur de l'indice, moins considérables, moins nettes, moins constantes surtout que celles de l'adulte.

C'est ce dont on peut se rendre compte par l'examen des courbes n°s 14–15.

La courbe n° 14 reproduit exactement, mais avec des valeurs plus minimes, les détails de la forme moyenne de l'adulte. Parfois la courbe peut revêtir une allure encore plus particulière, comme c'est le cas de la courbe n° 15 ; il est vrai que chez ce petit malade l'on était en droit de suspecter un terrain bacillaire, susceptible de modifier la valeur de l'indice.

Malgré cette restriction, si l'on se reporte aux courbes (n°s 3 et 4) au début de la courbe n° 12, on est bien forcé d'admettre que chez les enfants les phénomènes d'opsonisation sont moins



importants que chez l'adulte. Nous avons d'ailleurs souvent vérifié ce fait en mesurant, les indices opsoniques, chez d'autres enfants atteints de fièvre typhoïde, soit au début de leur fièvre, soit à la période d'état, soit au moment de leur convalescence, et bien rarement nous avons trouvé chez eux des valeurs très élevées de l'indice opsonique.

Si l'on oppose cette constatation, au fait clinique que l'enfant se défend merveilleusement contre la fièvre typhoïde, doit-on en conclure que les opsonines ne jouent qu'un rôle très effacé dans la lutte de l'organisme, contre l'infection. Nous croyons plutôt, en réponse à cette objection, que l'enfant, pour se défendre, fait appel à des organes neufs dont les actions antitoxiques sont plus vives que celles de l'adulte ; ses capsules surrénales, son foie,

sa moelle osseuse, sa rate, son corps thyroïde, sont en état de vie plus active que ceux de l'adulte, et surtout ces organes ont moins eu l'occasion d'être touchés par les tares morbides, de sorte qu'il suffit à leur organisme, d'un minimum de substances intermédiaires entre le leucocyte et le bacille, dans le cas particulier, d'un minimum d'opsonines.

Telles sont donc dans l'évolution de la fièvre typhoïde, les principales variations de l'indice opsonique : schématiquement on peut résumer tout ce qui précède de la manière suivante : dans les formes graves, l'indice opsonique s'élève de 1,50 à 4 pendant la période d'état, lentement dans les formes *non traitées par le sérum*, *brusquement* et *rapidement* au contraire, chez *les malades injectés ;* puis il s'abaisse à 2,50 au moment du stade amphibole ; pendant cette période, il subit lui aussi quelques variations, quelques oscillations, puis au moment où le malade guérit, où la fièvre tombe, il s'élève à nouveau un peu, pour atteindre 3, 3,50 au moment de la convalescence.

Dans les formes bénignes, l'ascension du début est à peine marquée, et assez brusquement au moment de la guérison, la valeur de cet indice s'élève, atteignant 4, 4,60 ; à remarquer que ce sont dans ces formes que les valeurs de l'indice sont souvent le plus élevées.

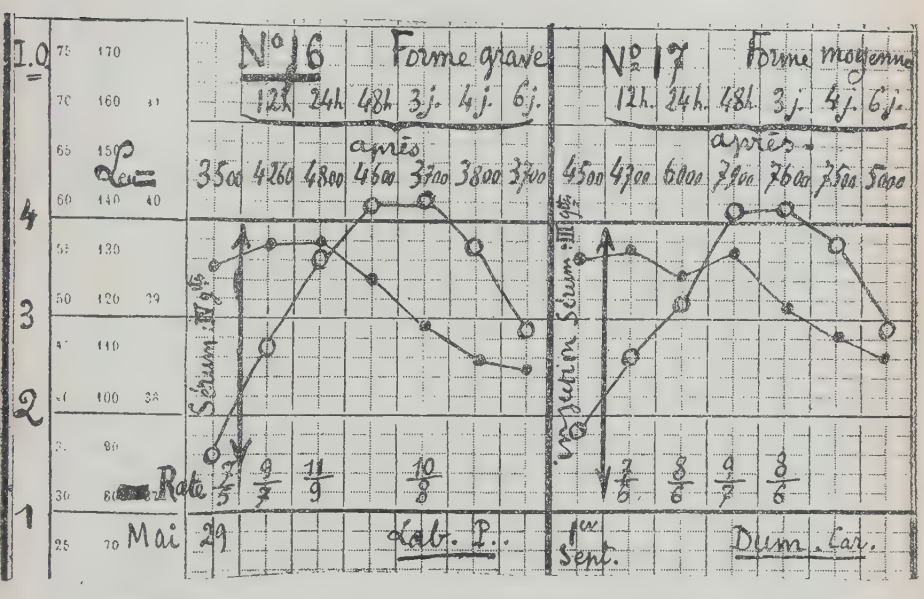
Indice opsonique et sérum antityphique

Avant d'aborder l'étude de certains faits particuliers aux opsonines dans la fièvre typhoïde, nous croyons devoir préciser quelques détails relatifs aux phénomènes d'opsonisation, consécutifs à l'injection de sérum antityphique de M. Chantemesse. Nous avons eu l'honneur de collaborer à ces recherches, et les résultats obtenus ont été publiés par M. Chantemesse au Congrès de Berlin (sept. 1907).

Aux schémas que l'on vient de voir, nous avons cru devoir ajouter les tableaux suivants, se rapportant aux détails de l'opsonisation, douze, vingt-quatre, quarante-huit heures après l'injection (dans les formes graves).

Ces courbes montrent que dans les formes graves il y a une élévation très notable et *très rapide*, très rapide c'est le fait

important de la quantité d'opsonines mises en activité. Dans les quarante-huit heures qui suivent l'injection, l'indice atteint 4, 4,50, 5 même quelquefois. Ce fait est net et indiscutable. L'injection agit, en donnant un coup de fouet vigoureux aux organes producteurs (?) d'opsonines.



Parallèlement, on note une augmentation constante du volume de la rate, une élévation nette de la tension artérielle, une hyperactivité de la circulation : il n'y a plus de cyanose : la *figure du malade est rouge, colorée*, les mains sont chaudes, les réactions après le bain se font mieux, tous faits qui traduisent une action très utile du sérum sur l'organisme et constituent la phase de réaction, se traduisant par une légère élévation thermique.

Nous trouvons signalée dans la thèse de Balthazard (Toxine et antitoxine typhiques, p. 159) dans les quarante-huit heures qui suivent l'injection de sérum, une poussée leucocytaire qui peut varier de 3.800 à 3.900, quelquefois même de 6.000 à 18.000.

Il s'agit d'une leucocytose à polynucléaires. Balthazard insiste sur l'éosinophilie constatée après l'injection, éosinophilie qui d'une manière générale, pour MM. Roger et Josué, serait en raison inverse de l'état d'intoxication microbienne des malades.

Toutes ces modifications sanguines cessent dès le quatrième

ou cinquième jour qui suit l'injection. Il en est de même des variations des opsonines. Mais ce n'est pas en vain que l'organisme a fourni, grâce au sérum, ce supplément d'effort ; l'effet utile a été produit, et au bon moment, surtout si l'on est intervenu dès le début de la fièvre : et c'est en cela que consiste surtout l'action du sérum antityphique.

Il ne faut pas y voir, hypnotisé que l'on est par la méthode du sérum antidiphtérique, un moyen de juguler en quelques jours la maladie, et d'amener à l'apyrexie, en *moins de huit jours* une fièvre typhoïde qui débute.

Le sérum antityphique, provoque chez le sujet une série d'actions et de réactions qui lui permettent de lutter avec plus d'utilité contre les progrès de la maladie ; grâce au sérum, toute l'activité organique est mise en jeu, la circulation sanguine est plus active, la tension artérielle plus élevée, la quantité d'urine augmentée.

Au lieu de faiblir, de résister mollement, le malade présente une réaction salutaire qui dure quatre à cinq jours ; ce temps est suffisant, pour que grâce à cet effort l'organisme se rende maître de l'affection : celle-ci n'est pas terminée, mais au lieu que ce soit la maladie qui domine le malade, c'est le malade qui domine sa maladie ; — et si, pendant l'évolution ultérieure de la fièvre, la courbe de la température, la courbe de l'indice opsonique se rapprochent assez de celles de la fièvre typhoïde normale, il n'en reste pas moins, qu'en une seule fois, en un seul effort, le malade a jugulé son affection, l'a surmontée. C'est là l'effet utile du sérum.

Nous avons vu, dans les fièvres typhoïdes non traitées par le sérum, l'élévation de l'indice se faire attendre longtemps pendant la période fébrile.

Dans les fièvres typhoïdes traitées par le sérum, au contraire, cet indice s'élève brusquement, rapidement et atteint en trois jours des valeurs considérables. Or, cette augmentation de la valeur de l'indice, est la traduction *in vitro*, de l'activité, de l'énergie phagocytaire du malade. La *sérothérapie antityphique agit donc surtout par opsonisation.*

Est-elle à rapprocher du mode d'action des vaccins, expérimentés par Wright. Leur inoculation est suivie d'un abaissement de la

valeur de l'indice, d'une *phase négative ;* rien d'analogue dans cette sérothérapie ; quelques fois, nous avons cependant constaté un très léger abaissement de l'indice, le premier jour qui suivait l'injection, mais ce fait est trop inconstant pour que l'on puisse le rapprocher de la véritable phase négative observée après l'inoculation des vaccins.

D'ailleurs le retentissement signalé sur les organes hématopoïétiques, sur la tension artérielle, etc., retentissement qui n'est pas observé après les vaccinations, prouve bien qu'il s'agit de deux méthodes absolument distinctes.

Bien avant qu'il ne fut question d'opsonines, en 1898, M. Chantemesse avait déjà constaté ce coup de fouet donné par le sérum antityphique à la phagocytose, et dans sa thèse de 1903 Balthazard fait figurer un dessin de cette phagocytose que nous pourrions intercaler dans ce travail, en l'interprétant comme un phénomène d'opsonisation.

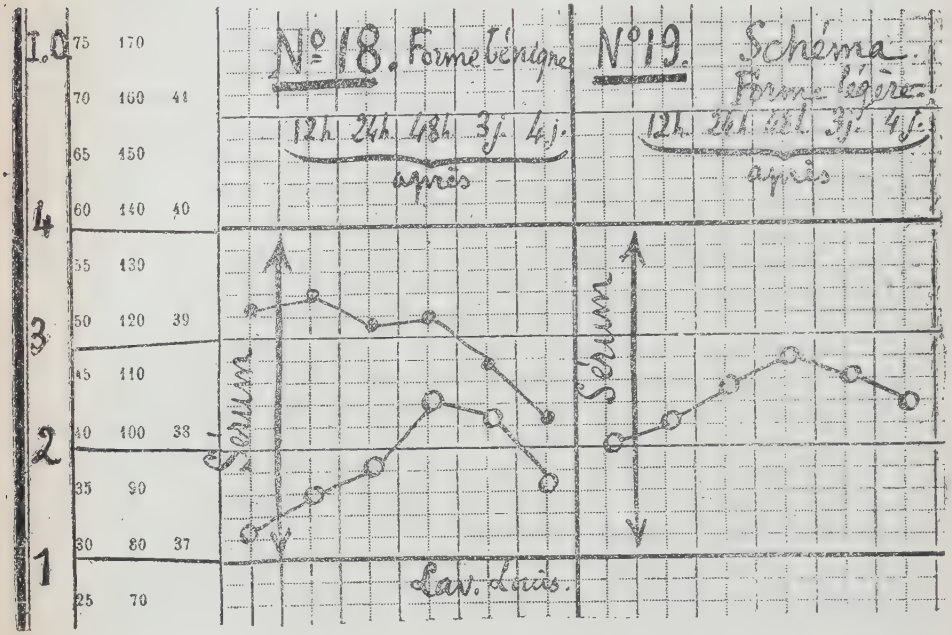
Ce coup de fouet donné à la phagocytose qui se traduit sur nos courbes par une élévation brusque de la valeur de l'indice, s'observe avec beaucoup moins de netteté dans les formes bénignes. C'est ce qu'indiquent les courbes suivantes, nos 18, 19.

Il semble que l'organisme soit déjà maître de la situation, et n'ait pas à recourir à un effort plus considérable : dans ces formes, très souvent d'ailleurs dès le début, l'indice a une valeur assez élevée (*2-2,20*).

Si telle est l'action du sérum, il importe d'en tirer quelques conclusions.

Il n'est pas indifférent chez un malade très intoxiqué de provoquer une opsonisation intense : la phagocytose, c'est-à dire la destruction des bacilles, s'accompagne de mise en liberté d'endotoxines, de substances pyrétogènes, etc., dont l'action ne doit pas être négligée. Ces endotoxines peuvent contribuer à intoxiquer encore le malade, ces substances pyrétogènes,à élever la température, ce qui nous explique le parallélisme assez fréquemment observé, entre l'élévation de température et l'augmentation de l'indice, ce qui doit nous inciter, par conséquent, à provoquer d'une manière d'autant plus discrète cette phagocytose, que l'individu sera plus profondément intoxiqué.

En dernier lieu, on peut se demander si le sérum agit directement, par ses *propriétés opsonisantes*.



Le sérum antityphique provient de chevaux, dont le pouvoir opsonique atteint des valeurs très élevées, 14-16, même, alors que celui d'un cheval normal, atteint *à peine* 1-1,50, pour le bacille d'Eberth.

En dilution, ces sérums de chevaux immunisés conservent jusqu'au 1/400, quelques qualités opsonisantes ;

Enfin par le chauffage, même plusieurs fois répété, il est IMPOSSIBLE de priver absolument ce sérum de ses opsonines. Il renferme donc des opsonines thermostabiles, puisqu'il possède encore, avant d'être injecté aux malades, bien qu'il ait été chauffé plusieurs fois à 60 degrés, un pouvoir opsonique de 1,90. D'autres sérums (antidiphtérique, antidysentérique) ne contiennent aucune opsonine pour le bacille d'Eberth. Réactivé avec une trace de sérum de cheval (normal), dilué, le sérum antityphique retrouve un pouvoir opsonique à peu près égal à 7.

Néanmoins, on ne peut conclure à une action *directe* des opsonines qu'il renferme dans l'interprétation des faits observés. Elles sont en trop minimes proportions, et la quantité de sérum injectée est elle-même trop faible, pour que cette action du sérum puisse s'interpréter par un apport direct d'opsonines.

Le mode d'action du sérum est plus complexe ; il s'agit, sans doute, d'une mise en activité spéciale des organes hématopoïétiques grâce à laquelle par un mécanisme encore insoupçonné, le pouvoir opsonisant du sang circulant, reçoit une impulsion particulière, qui permet à l'organisme de lutter plus efficacement contre l'infection.

Pour résumer ces considérations, nous ne pouvons mieux faire que rapporter ici les conclusions présentées à ce sujet par M. Chantemesse, au Congrès de Berlin (23 septembre 1907).

« Dans les formes bénignes, dès le lendemain qui suit l'injection de sérum, l'indice augmente *légèrement*, atteint un point relativement élevé le quatrième jour, puis baisse un peu à mesure que le sérum injecté est éliminé, et bientôt la défervescence se dessine, tandis que le sérum du malade contient de plus en plus d'opsonines. Quand la convalescence est bien franche, l'indice opsonique reste encore élevé pendant le premier mois après la guérison.

Quand la convalescence est traînante, pour une raison quelconque (troubles digestifs, tuberculose latente, etc.), l'indice opsonique marque un chiffre plus faible.

La courbe des indices opsoniques dans les formes graves montre d'abord un indice faible avant l'injection ; l'individu se défend médiocrement ; puis, après le sérum, dans les trois à quatre jours suivants, on observe une élévation brusque du chiffre de ces index. Il doit se faire à ce moment une destruction intense des bacilles, destruction qui jette dans la circulation d'un malade déjà intoxiqué par la fièvre typhoïde de nouveaux produits toxiques issus des bacilles.

Devant cette surcharge de toxicité, la malade réagit par la période fébrile, dite de réaction ; d'où se conçoit la nécessité de modérer, dans les formes graves, cette rapide destruction bacillaire, et n'injecter que de faibles doses de sérum à ces derniers malades.

Du quatrième au douzième jour après l'injection, à mesure que l'action du sérum s'atténue, on voit la courbe des indices s'abaisser, tout en restant cependant très supérieure au chiffre des opsonines constatées avant l'injection. Puis, dans ces formes graves où la maladie se prolonge un peu, on voit cette courbe des indices osciller jusqu'à la convalescence autour d'une ligne à peu près horizontale ; mais, phénomène capital et qui explique que les malades, tout en conservant de la fièvre, se défendent bien, ne sont nullement en danger et conservent une mine relativement florissante, les indices opsoniques restent toujours assez élevés ; la phagocytose se fait bien, la résistance est organisée ; enfin arrive l'ascension finale de la courbe opsonique, à l'aurore de la guérison.

Les phénomènes opsoniques apparus dans le sang des malades traités par le sérum ne prennent toute leur signification que lorsqu'on compare entre elles, que l'on superpose pour ainsi dire, les modifications survenues dans le sang, dans les organes hématopoïétiques, et dans les courbes thermiques. Alors les effets produits par la sérothérapie antityphoïde et les réactions constatées dans la physiologie pathologique de la maladie modifiée, se dessinent avec une netteté suffisante pour qu'on puisse émettre, sur leurs rapports réciproques, une hypothèse fondée sur des observations expérimentales et cliniques ; la voici : sous l'influence du sérum antityphoïde — sérum qui, même chauffé, contient des opsonines, il se fait dans l'organisme du malade — peut-être par un phénomène d'*opothérapie* — une excitation des appareils lymphoïdes, myéloïdes et sanguins, appareils qui ont déjà ressenti eux-mêmes les effets de l'intoxication. L'hyperactivité provoquée dans ces organes fait naître des opsonines qui arrivent en grand nombre dans le sang ; les bacilles sont happés et détruits. Dans les formes bénignes, la secousse donnée aux appareils producteurs d'opsonines n'est pas très considérable et le sérum amène une perturbation utile, mais modérée. Dans les formes graves, la secousse produite par le sérum est plus violente, plus utile aussi, mais à condition d'être ménagée. La conduite à tenir par le clinicien s'éclaire à la lecture de ces courbes des indices opsoniques.

Il faut craindre, en effet, de donner une secousse trop forte

aux malades ; on risquerait d'inhiber la production des opsonines.

Ces observations permettent de donner aujourd'hui l'explication de faits signalés dans des communications précédentes à propos de la sérothérapie et dont la nature n'avait pas été bien comprise. En 1901, j'avais émis cette hypothèse (*Presse médicale*) : « Il se fait sous l'influence du médicament une destruction rapide d'un très grand nombre de microbes et leur multitude jette dans la circulation des substances pyrétogènes plus ou moins abondantes. »

Il suffit de comparer la courbe des opsonines à celle des températures, pour voir, qu'après le sérum, la période de réaction fébrile suit la période d'opsonisation maxima et qu'elle en est la traduction légitime. Si, dans les derniers jours de la maladie et au moment de la convalescence, l'augmentation du chiffre des opsonines ne fait pas apparaître la fièvre, c'est qu'à ce moment il n'y a plus, ou pas de bacilles à détruire.

En 1902 (Congrès du Caire), je disais : « Plus le malade est malade et plus faible doit être la dose de sérum injecté ». Cette observation avait à cette époque paru étrange, étant données les notions classiques au sujet de la sérothérapie antidiphtérique et au sujet de l'utilité des doses massives dans les états diphtériques graves. Aujourd'hui l'étude de la courbe des opsonines explique et justifie cette prudence en matière de sérothérapie antityphoïde.

Enfin, on a émis cette critique : « Si le sérum est vraiment un médicament actif dans la fièvre typhoïde, pourquoi continuer à employer les bains froids qui sont si douloureux à supporter? »

A cette objection on peut répondre : pour faire supporter, dans les formes graves, la réaction produite par la destruction microbienne rapide, les bains froids ou frais sont éminemment utiles et ces bains, collaborateurs de la sérothérapie, ne pourront être supprimés que lorsque l'on possédera un sérum d'une puissance antitoxique très considérable.

Le sérum antityphoïde n'est donc pas un médicament qui suffit à tout, mais c'est un médicament d'une grande puissance et dont il faut savoir se servir. Un regard jeté sur la courbe des

opsonines suffit à en donner la conviction. Ce remède a un avantage exceptionnel sur les autres ; il aide sûrement et énergiquement les cellules du corps à détruire les microbes de la fièvre typhoïde. Quelle est l'autre matière pharmaco-dynamique en qui on puisse de bonne foi reconnaître un tel privilège ?

Détails de certaines autres particularités présentées par l'indice opsonique au cours de la fièvre typhoïde

Maintenant que nous connaissons dans leur ensemble les variations présentées par l'indice opsonique, pendant l'évolution de la fièvre typhoïde, nous pouvons insister plus volontiers sur certains détails de cette courbe, que nous avons volontairement, soit passés sous silence, soit simplement signalés sans y insister, ayant hâte d'expliquer surtout, le mode d'action du sérum antityphique.

Nous allons étudier maintenant, d'une manière plus détaillée, la valeur de l'indice opsonique à chaque période de la maladie, spécialement, à la période d'invasion, d'incubation et de convalescence ; les modifications de cet indice dans certaines formes torpides, traînantes, enfin celles qui lui sont imprimées, par certains incidents de la maladie ; nous aurons l'occasion de signaler également le passage de ces opsonines de la mère au fœtus ; enfin nous nous demanderons si l'examen de cet indice peut nous fournir des renseignements au sujet du *pronostic*.

Indice opsonique. Invasion et Incubation

DE LA FIÈVRE TYPHOIDE

Il est rare de pouvoir observer à l'hôpital ces périodes d'incubation et d'invasion, et les courbes rapportées d'autre part, concernent toutes des malades au huitième ou dixième jours au moins de leur fièvre thyphoïde (notre critérium pour préciser cette date, étant l'apparition des taches rosées lenticulaires).

Nous pensons cependant, avoir pu deux fois calculer l'indice

opsonique, à cette période de début de la maladie. Dans un cas il s'agissait d'une infirmière du Bastion 29. prise assez brusquement de troubles gastro-intestinaux, chez laquelle, soupçonnant une fièvre typhoïde, nous fîmes parallèlement, tous les jours, la mesure de l'indice et la recherche du pouvoir agglutinant.

Le séro-diagnostic devint positif sept jours après le début des premiers symptômes cliniques. Nous avions donc bien là, une étude des variations de l'indice opsonique, à la période de début : les valeurs successives de cet indice furent : 1, 40, 1, 20, 1, 50, 1, 70, 1, 80, 2, c'est-à-dire montrèrent une ascension lente, mais permanente, de la valeur de cet indice.

Le deuxième cas est plus intéressant et nécessite quelques explications : afin d'avoir au cours de ces recherches sur les opsonines un terme de comparaison stable, nous prenions tous les jours au laboratoire une trentaine de gouttes de sang, à la même personne (sujet normal), dont le pouvoir opsonique nous permettait de calculer l'*indice* de nos malades. Or, au cours de ces recherches ce sujet s'inocula ou contracta la fièvre typhoïde. Nous connaissons les valeurs de son pouvoir opsonique dans les quarante jours qui précédèrent le moment où il s'alita, c'est-à-dire durant un laps de temps comprenant et au delà, la phase d'incubation et celle d'invasion : ce fait nous paraissant être très intéressant, nous allons y insister quelque peu.

Pendant la phase d'incubation, c'est-à-dire pendant la phase silencieuse, difficile à préciser, le pouvoir opsonique de ce sérum était absolument pareil à celui d'autres individus normaux, variable dans les seules limites que nous avons indiquées, c'est-à-dire de 0, 90, à 1, 20, en moyenne, suivant la richesse de l'émulsion microbienne.

Nous croyons pouvoir affirmer que, dans ce cas au moins, la phase d'incubation ne modifia nullement la valeur de l'indice opsonique.

Le premier symptôme clinique qui apparut, fut une céphalée intolérable ; le sujet prit ce jour-là une dose assez forte d'antipyrine avant de prélever son sang. Ce jour-là, également, la valeur de son pouvoir opsonique fut 0,80, malgré une émulsion microbienne assez concentrée.

Nous le répétons, le sujet ignorait absolument à ce moment

qu'il fût en incubation de fièvre typhoïde, et il interprétait cette céphalée, comme un simple incident. Le chiffre de 0,80 obtenu, étonna un peu, puis fut expliqué (du moins c'est ce qu'on pensa à ce moment), par l'absorption d'antipyrine. Le sérum d'un individu normal, vis-à-vis la même émulsion donna 1,10 (ce jour-là, l'indice opsonique du sujet était donc de 0,70).

Si l'on avait supposé qu'il s'agissait de l'invasion d'une fièvre typhoïde, des examens en série eussent été faits.

Il n'en fut rien, et nous ne possédons, à cette date, que ce premier résultat. Pendant les trois jours qui suivirent, le sujet ne fournit plus son sang, car, souffrant encore il ne se considérait plus comme le sujet qui doit fournir le sérum normal, destiné à établir l'indice opsonique.

Au quatrième jour, comme il semblait aller mieux, il recommença à fournir du sang : le pouvoir opsonique (nous ne disons pas l'indice) fut 1,30. Ce chiffre ne nous parut pas exagéré, et il nous servit à établir tous les indices des malades. Ici se place une constatation rétrospective intéressante. Ce jour-là, tous ces indices accusèrent d'une manière générale un mouvement de descente : nous en étions alors, au début de ces recherches sur les opsonines, nous tâtonnions encore, et nous ne sûmes pas interpréter ce résultat : rétrospectivement, nous pensons que ce jour-là le chiffre *de 1,30* était trop fort, que le sérum soi-disant normal n'était pas un sérum normal, mais un sérum déjà électivement opsonisant.

Le sixième jour, malgré quelques troubles gastro-intestinaux le sujet fournit à nouveau son sang. Son *pouvoir opsonique* fut 1,60, et toutes les expériences en cours ce jour-là, durent être abandonnées, car cette valeur énorme du pouvoir opsonique du sérum normal vis-à-vis une émulsion très diluée, faussa tous les résultats.

Au huitième jour, les symptômes cliniques se précisèrent chez ce malade et l'on songea à une fièvre typhoïde.

Le séro-diagnostic était encore négatif ; cependant l'*indice opsonique* atteignait déjà 1,70.

Le séro-diagnostic ne tarda d'ailleurs pas à devenir positif.

Nous avons longuement insisté sur ces faits, car nous les croyons intéressants : à notre avis, ils nous permettent d'ap-

précier la valeur des opsonines pendant l'incubation et le début de la période d'invasion d'une fièvre typhoïde, périodes de la maladie où l'on ne pourra les étudier qu'exceptionnellement à nouveau.

En schématisant nous croyons pouvoir conclure :

1° Pendant la période silencieuse d'incubation, il n'y aucune modification du pouvoir opsonique du sérum, ou toutefois des modifications insignifiantes ;

2° La fin de cette période d'incubation, et le tout premier début de l'invasion, sont marqués par une disparition de ces opsonines, par la « phase négative de la valeur de l'indice », comme l'appelle Wright. Cette période où l'organisme paraît ne plus réagir, et se laisse passivement envahir est *courte*, puisque nous ne l'avons pas constatée chez l'infirmière examinée, vingt-quatre heures après le début des premiers symptômes cliniques et puisque, chez le sujet qui sert de base à cette étude, nous retrouvons trois jours après cette phase négative un pouvoir opsonique, supérieur à la normale ;

3° Pendant que se déroule la succession des phénomènes d'invasion, les opsonines augmentent peu à peu, plus ou moins vite, suivant les sujets, pour en arriver aux chiffres que nous obtenons, chez nos malades, entrant à l'hôpital vers le huitième ou le dixième jour. A cette date l'indice opsonique est entre 1,60 et 2,10 dans la majorité des cas, et c'est sur cette constatation, établie par l'examen méthodique d'une cinquantaine de malades, que nous avons fondé la possibilité du DIAGNOSTIC OPSONIQUE AU COURS de la fièvre typhoïde ; nous y ajoutons maintenant, cette notion intéressante : nécessité de connaître depuis quand la maladie évolue : si elle en est tout à son début, l'indice n'est pas très élevé, mais va s'élever peu à peu dans les jours suivants ; si elle évolue depuis plus de douze jours, alors l'indice doit avoir une valeur d'au moins 1,70, pour que nous ayons le droit de lui attribuer une valeur diagnostique. D'autre part, cette constatation d'une *phase négative*, c'est-à-dire d'une chute de la valeur de l'indice au moment où l'organisme accuse cliniquement son invasion par le germe pathogène, nous permet d'interpréter la chute de l'indice observée au cours des reprises et des rechutes. Il est hors de doute qu'il s'agit bien dans

ces cas, d'une nouvelle réinoculation par les germes infectieux. Pour expliquer cette phase négative, plusieurs hypothèses ont été émises. Nous nous contenterons de les citer, ne disposant d'aucun fait précis qui nous permettrait d'admettre plutôt celle-ci que celle-là.

Pour David Lawson et Miller, on peut proposer trois explications :

1° Une production moindre des opsonines par les organes chargés de les fabriquer, inhibés en quelque sorte par l'agent infectieux ;

2° Une consommation extrêmement active au contraire, par une phagocytose exagérée ;

3° Une excrétion plus importante des opsonines à ce moment précis par les organes excréteurs (sueur, urine).

En ce qui concerne la tuberculose, ces auteurs adoptent cette dernière hypothèse, ayant observé une excrétion d'opsonines par l'urine, plus considérable pendant la phase négative : Expérimentalement nous n'avons rien rencontré d'analogue ; et nous avons déjà indiqué dans quelles faibles proportions les urines des typhiques contenaient des opsonines.

Aussi nous opterons plutôt pour la première hypothèse.

Fièvre typhoïde à forme traînante et indice opsonique

Nous avons recherché la valeur de l'indice opsonique dans certaines formes torpides, lentes, dans lesquelles la température reste aux environs de 37°8, 38 degrés, atteint à peine 37 degrés au matin, puis remonte à 38 degrés dès 11 heures du matin. Dans ces formes torpides, l'indice est extrêmement faible 1,30, 1,40 ; l'organisme ne se défend pas : un élément inconnu (?) paralyse la phagocytose (peut-être quelques substances antiphagiques, ou bien, une surproduction d'agressines), et lorsque le malade enfin arrive à l'apyrexie, la valeur de son indice opsonique s'élève brusquement.

Nous avons eu l'occasion, dans une de ces formes torpides, d'intervenir très tardivement par l'injection de sérum antityphique. Le résultat fut surprenant, en quatre jours l'indice opsonique de

1,20, atteignit 3,60, et la température s'abaissa à 37 degrés, comme si l'organisme, n'avait besoin dans ce cas, que d'une excitation légère, pour réveiller ses fonctions phagocytaires et antitoxiques endormies, paralysées.

Convalescence et indice opsonique

D'une manière générale, on peut dire, que l'indice opsonique est élevé au moment de la convalescence, et se maintient élevé assez longtemps. Dans ces faits ne sont pas compris les enfants, chez lesquels à une ou deux exceptions près, d'après nos recherches, l'indice opsonique est peu élevé.

Chez les convalescents, cet indice est sujet à des variations très considérables, suivant le moment de la journée.

Cela tient, croyons-nous à l'alimentation extrêmement abondante du convalescent, la digestion, nous l'avons vu, augmentant la quantité d'opsonines. Lorsque la convalescence n'est pas franche, surtout lorsqu'il persiste des troubles gastro-intestinaux, ou que l'on peut suspecter la tuberculose, l'indice est abaissé.

La valeur moyenne de cet indice, chez les convalescents (moyenne établie sur 100 typhiques au moment de leur départ du Bastion 29, c'est à-dire dans les quinze premiers jours de la convalescence, est légèrement supérieure à 3).

L'indice s'abaisse ensuite peu à peu assez lentement dans les deux premiers mois (2, 2,50) puis plus rapidement pour atteindre la normale en quatre ou cinq mois.

A ce propos, faisons remarquer une fois encore, que nous avons vu des malades conserver leurs agglutinines et perdre leurs opsonines et, *vice versa*, pendant la convalescence.

Un fait intéressant à signaler et déjà rapporté dans la discussion de la spécificité des opsonines, est le réveil, l'exaltation de ces opsonines spécifiques, éberthiennes, à l'occasion d'une affection quelconque survenant chez un individu ayant eu autrefois la fièvre typhoïde : il est vrai que l'on voit de même, à l'occasion d'une infection banale, réapparaître les agglutinines typhiques, dans le sang d'un individu atteint antérieurement de fièvre typhoïde, mais qui n'agglutinait plus depuis longtemps.

La facilité avec laquelle l'organisme immunisé par une fièvre typhoïde antérieure réagit à une infection quelconque, par la production d'opsonines spécifiques, éberthiennes, explique, à notre avis, la persistance de l'immunité typhoïdique.

Ce n'est pas une fois, mais une dizaine de fois au moins, que nous avons constaté cette surproduction d'opsonine éberthienne chez des convalescents ou des immunisés (typhiques), à l'occasion d'une infection quelconque, la tuberculose exceptée. Nous avons signalé dans le cours de ce travail (voir chapitre Spécificité des opsonines) la réapparition des opsonines éberthiennes, à l'occasion de dysenterie bacillaire, d'infection puerpérale. A ces deux cas nous pouvons ajouter un cas d'érysipèle de la face, deux angines, une pneumonie, qui s'accompagnèrent du retour en abondance d'opsonines électives pour le bacille d'Eberth.

L'organisme, même longtemps après la première atteinte, se retrouve si rapidement en état de défense qu'il est à jamais ou à peu près à jamais à l'abri du bacille d'Eberth, qui est phagocyté sans retard si, par hasard il pénètre dans l'organisme. Ainsi, croyons-nous pouvoir expliquer, l'immunité acquise et permanente qui suit la fièvre typhoïde.

Modifications de l'indice opsonique au cours de certains incidents d'évolution, ou consécutifs à certaines médications.

On peut constater parfois des variations assez importantes de valeur de l'indice, en particulier pendant la période d'état, à l'occasion d'une poussée fébrile, d'un trouble gastro-intestinal (vomissement, diarrhée surtout), de phénomènes nerveux, sans qu'il soit facile d'en trouver toujours une explication bien plausible.

Les variations dont il s'agit maintenant, se distinguent par les caractéristiques suivantes : 1° la chute ou l'élévation de l'indice suivant les cas, est de courte durée, dès le lendemain l'indice est revenu à sa valeur primitive, le même fait peut quelquefois se reproduire à plusieurs jours d'intervalle ; ces oscillations de valeur de l'indice traduisent sans doute les alternatives de lutte, de défaite et de victoire de l'organisme contre le germe

infectieux (oscillations signalées à la période moyenne de la maladie).

La chute de l'indice ne prend une valeur réelle que si elle est considérable et permanente, et si elle est accompagnée ou suivie de près, par des symptômes de reprise, de péritonite ou de rechute.

Il est possible également de signaler quelques variations de cet indice, sans rien de très précis d'ailleurs, à la suite de certaines médications.

Le bain froid ne paraît pas modifier la quantité des opsonines, pas davantage l'ingestion de quinine, de pyramidon, ou l'injection de caféine, spartéine ; une très légère suractivité a été constatée à la suite d'injection intraveineuse de collargol, électrargol et dans quelques cas à la suite d'injection intramusculaire de nucléinate de soude ; mais, nous le répétons, rien de bien net, ni de bien constant dans toutes ces modifications.

Nous avons déjà signalé le rôle du chlorure de calcium qui paraît favoriser l'opsonisation en même temps qu'il favorise la coagulation du sang, d'où son emploi dans les états hémorragiques de la fièvre typhoïde, tandis que l'acide citrique qui empêche cette coagulation (d'où son emploi indiqué par Wright (1)

---

1. Wright a imaginé une technique très simple permettant de calculer le pouvoir coagulant d'un sang. On prépare toute une série de solutions, 1/300 à 1/1800 d'oxalate de potasse. On mélange dans une série de pipettes effilées une quantité identique du sang du malade à étudier, et de ces solutions successives, on recherche au bout d'un certain temps quelle est la concentration qui est à la limite de la coagulation et de la non coagulation. L'on sait par une série de recherches qu'un sang normal est à cette limite à l'aide de la solution à 1/1000 : suivant la concentration nécessitée pour obtenir cette limite avec le sang du malade étudié, qu'il faille une concentration plus faible ou plus forte, on conclut que le malade a un pouvoir coagulant diminué (tendance aux hémorragies, ou augmenté, tendance aux phlébites). Par l'emploi du chlorure de calcium ou de l'acide citrique par ingestion on augmente ou l'on diminue ce pouvoir coagulant.

Nous avons souvent vérifié ce fait : trois fois l'acide citrique imposé au malade dès le début des symptômes phlébitiques a amené une rétrocession rapide de ces symptômes.

Le danger de ces médications est d'être une arme à deux tranchants dont il faut se servir prudemment. Le chlorure de calcium contribue à arrêter l'hémorragie, mais, augmentant la coagulabilité du sang, il favorise la production de phlébites. L'acide citrique diminue cette coagulabilité, mais il favorise l'hémorragie. Comme preuve nous rapportons l'observation suivante :

Un malade est pris d'une épistaxis assez rebelle, il est traité par le chlorure de calcium à haute dose : trois jours après, apparition d'une phlébite, on lui donne alors

dans les phlébites au cours de fièvre typhoïde) annihile un peu ces phénomènes d'opsonisation.

Nous ne nous dissimulons pas que les partisans de l'origine leucocytaire des opsonines trouveront dans la constatation de ce fait, un argument à leur avantage : ajoutons qu'au cours de phlébites, traduisant cependant un phénomène de coagulation, nous n'avons pas trouvé une augmentation des *opsonines.*

Les injections de sérum physiologique s'accompagnent, tantôt d'une chute de l'indice que l'on pourrait interpréter comme la conséquence d'une simple dilution sanguine, tantôt, d'aucune modification, tantôt au contraire, d'une augmentation.

Pour mémoire, rappelons la présence des opsonines dans un liquide pleural, dans un liquide de pyo-pneumothorax, leur absence presque totale, dans les urines, le liquide céphalo-rachidien, les larmes, etc.

Plus intéressant au point de vue biologique est le fait suivant :

Passage des opsonines de la mère au fœtus (1)

Au cours d'une fièvre typhoïde évoluant chez une femme dont nous étudiions la courbe de l'indice opsonique, une fausse couche d'un fœtus de cinq mois s'est produite qui nous a permis d'étudier ce passage des opsonines de la mère au fœtus.

La malade présentait une agglutination au $\frac{1}{50}$ très nette pour le bacille d'Eberth. Son indice opsonique était 2,7.

Le sang du fœtus examiné aussitôt après l'avortement n'agglutine pas, son indice est 1,8.

Le lait de la mère agglutine très fortement : son indice opsonique est 2,10. Les urines contiennent quelques traces d'aggluti-

---

de l'acide citrique à haute dose, atténuation des symptômes de phlébite, mais réapparition de l'épistaxis ; cette disparition de la phlébite se fait par émiettement du caillot, ce qui peut favoriser en outre la production d'embolie.

Tout récemment d'ailleurs (Académie de Médecine, janvier 1909) M. le Professeur Chantemesse, a exposé en détail cette technique et les résultats qu'il en a obtenus.

1. Milbit. *Gaz. des Hôp.*, 21 juin 1908.

nines, mais par contre, pas d'opsonines, indice 0,35. Mêmes résultats en ce qui concerne les larmes de la malade.

Nous avons hâte de cesser l'énumération de ces faits, pour aborder la question de savoir si, de l'examen de l'indice opsonique, on peut et l'on est en droit, de tirer un pronostic.

Valeur « pronostic » de l'indice opsonique

Que permet en somme de contrôler cet indice opsonique ? Le pouvoir phagocytaire du sérum du malade : Si dans la lutte de l'organisme contre les infections microbiennes, n'entrait en jeu que le processus phagocytaire, les résultats fournis par cette méthode, seraient des plus précieux au point de vue pronostic.

Mais si ce processus de phagocytose joue un grand rôle, mettons même le plus grand, il ne résume pas à lui seul toute la lutte contre l'infection. Les bacilles phagocytés, même une fois phagocytés, à mesure qu'ils sont détruits, déversent dans l'économie leurs endotoxines, déterminent souvent la mort des polynucléaires qui les ont englobés, et d'ailleurs, avant même d'être phagocytés, ils ont profondément intoxiqué l'organisme par leurs toxines, leurs aggressines, etc.

La mesure du pouvoir opsonique ne permet pas d'apprécier cet état d'intoxication — que révèle surtout l'examen clinique — aussi avons-nous rencontré des indices opsoniques élevés, dans des fièvres typhoïdes graves, avec symptômes d'intoxication considérables, quelques heures même avant la mort du malade.

Pour être un élément de pronostic, cet indice doit donc s'appuyer sur les symptômes *cliniques*, faute de quoi il perd toute valeur ; il ne peut nous permettre d'apprécier que le pouvoir phagocytaire du sérum du malade et à ce point de vue particulier, nous fournir d'excellents renseignements ; il nous montre si, oui ou non, l'organisme réagit contre l'invasion microbienne, mais il n'est le témoin que de cette seule phagocytose, et ne nous traduit pas, par conséquent le degré d'intoxication du malade.

C'est pourquoi nous ne pouvons tirer un renseignement pronostic de valeur absolue de l'examen seul de l'indice opso-

nique ; il vient seulement se superposer à l'ensemble des symptômes cliniques, et nous permettre d'apprécier une des phases de la résistance intime du sujet, la lutte par la phagocytose.

CHAPITRE III

Fièvre typhoïde expérimentale et indice opsonique

Aussi brièvement que possible, nous allons exposer maintenant les résultats obtenus dans quelques cas de fièvre typhoïde expérimentale.

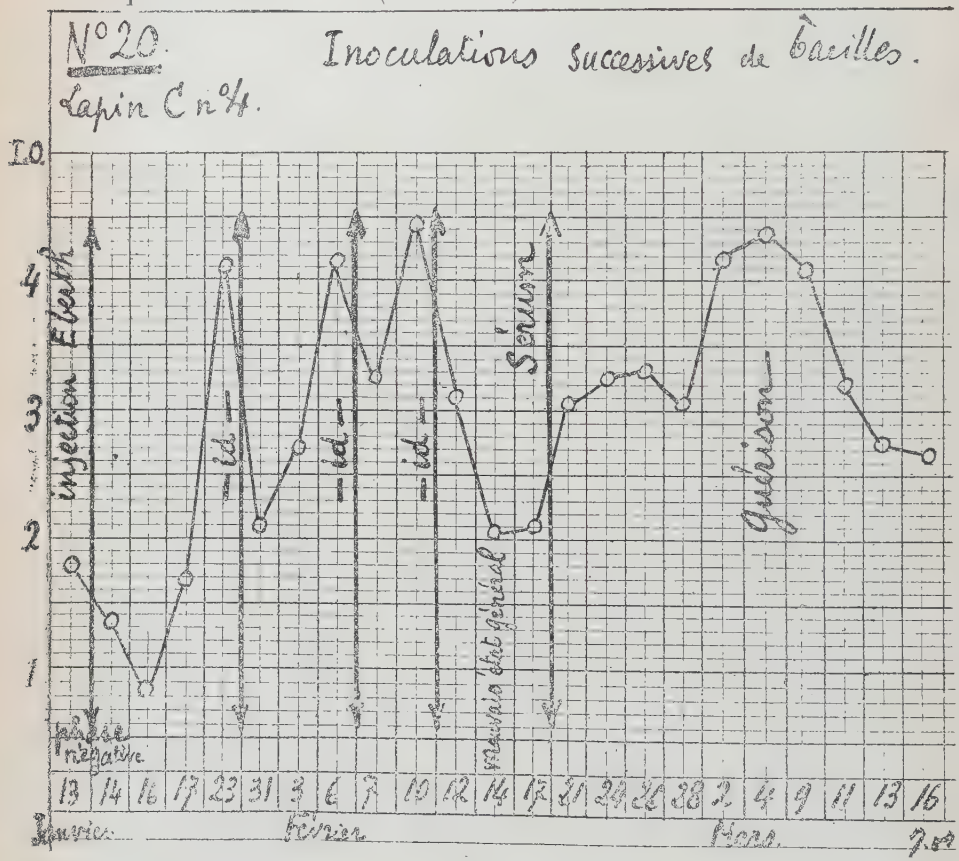
Notre but n'est pas d'en étudier en détail les manifestations : nous nous contenterons à ce point de vue de signaler chez quelques-uns des animaux inoculés, la présence de plaques de Peyer ulcérées et de lésions caractéristiques de l'intestin ; nous ne nous étendrons pas davantage sur les modifications subies par les organes hématopoïétiques, à la suite d'injection de sérum antityphique ; nous avons déjà rapidement signalé les modifications de la rate et de la moelle osseuse : nous n'y reviendrons pas, n'ayant en vue dans ce chapitre que les variations de l'indice opsonique, et renvoyant pour le reste de cette étude, à la thèse de Balthazard, où cette question est parfaitement mise au point.

Dans la plupart de nos expériences, presque dans toutes, l'inoculation de bacilles d'Eberth, fut suivie dans les vingt-quatre premières heures d'une chute très notable de la valeur de l'indice. Cette valeur devient dans certains cas inférieure à 1. C'est la phase négative ainsi que l'appelle Wright. Suivies presque heure par heure après l'inoculation, ces variations paraissent se faire progressivement, sans être précédées comme certains auteurs le signalent dans la tuberculose, d'une très courte phase positive.

Cette phase négative ne dure pas longtemps, et assez rapidement, la phase positive apparaît.

Si au lieu de bacilles vivants, on injecte des bacilles chauffés à 60 degrés, la phase négative est moins importante, moins tenace. Si l'on inocule à nouveau l'animal au moment de l'acmé de son

pouvoir opsonique, on provoque à nouveau un abaissement de la valeur de l'indice une nouvelle phase négative relative ; mais elle est moins longue que la première. A la suite d'injections répétées, surtout à la suite d'injections de bacilles virulents, l'état général s'altère et l'indice baisse de valeur. C'est ce qu'indique la courbe n° 20 (ci-dessous).

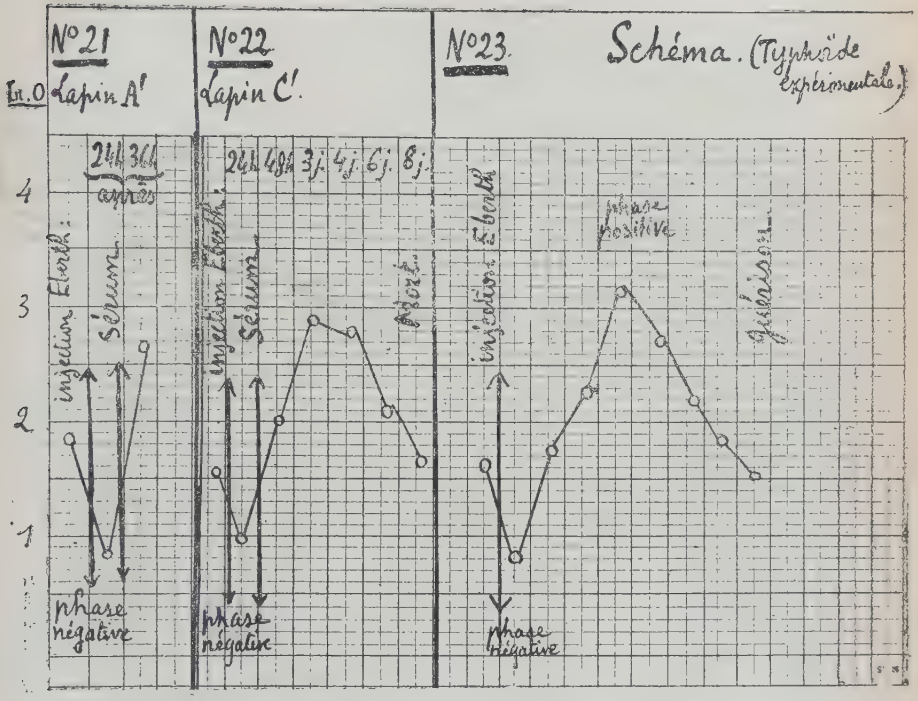


Au moment où l'animal périclitait, nous lui avons injecté du sérum antityphique et nous avons vu se relever ainsi l'indice opsonique en quarante-huit heures ; mais cette élévation est d'ailleurs assez éphémère et le lapin perd rapidement ses opsonines pour le bacille d'Eberth.

C'est ce que nous montrent les tracés suivants :

Le numéro 23 nous représente schématiquement les variations de l'indice opsonique, chez un lapin recevant une injection

de bacille d'Eberth. Après une phase négative qui correspond à la période de début des symptômes objectifs, l'indice s'élève pendant quatre à six jours, puis assez rapidement tous les symptômes cliniques s'atténuent et la valeur de l'indice s'abaisse



Retenons donc simplement de cette courte étude, qui nous paraît suffisante après le développement accordé à la partie clinique, la constatation de la « phase négative » que nous n'avons à peu près jamais rencontrée en clinique ; sans doute, elle doit se produire au début des premiers symptômes de l'infection typhique, comme semblent le prouver ces constatations expérimentales.

Nous ne voulons pas non plus rappeler les hypothèses émises au sujet de ces phases positives et négatives par Wright et son école, nous aurons l'occasion d'y revenir, en étudiant les opsonines dans la tuberculose.

CHAPITRE IV

Rapports entre les opsonines et les autres substances contenues dans le sérum : agglutinines, agressines, antiphagines, précipitines. — Comparaison entre le pouvoir opsonique et le pouvoir bactéricide, hémolytique, amylolitique du sérum des typhiques

Maintenant que nous connaissons les variations de l'indice opsonique dans la fièvre typhoïde humaine, et dans la fièvre typhoïde expérimentale, il va nous être plus facile d'aborder les discussions relatives à la nature des liens qui unissent certaines propriétés du sérum des typhiques (agglutinines, précipitines, pouvoir bactéricide, etc.) et les opsonines. Ce chapitre aurait mieux été placé sans doute au moment de la discussion de la nature même des opsonines ; mais il sera mieux compris au terme de cette étude, par suite des connaissances plus nombreuses que nous possédons sur les opsonines dans l'infection typhique.

Discuter à nouveau ces relations, entre les opsonines et les autres propriétés du sérum, c'est rouvrir le débat nullement clos encore, de l'individualité des opsonines, c'est pourquoi en raison de l'importance de cette question nous ne craignons, ni d'insister, ni d'accumuler les arguments.

1° Agglutinines et opsonines

Un intérêt tout spécial s'attache à l'étude de l'intimité plus ou moins étroite qui réunit ces deux propriétés du sérum des malades. Ce n'est pas d'ailleurs qu'à propos de la fièvre typhoïde que cette question se pose. Elle se pose à l'occasion de toutes les infections, traduisant ainsi l'universalité d'un processus

général. Ainsi, à la suite de MM. Widal et Abrami ayant démontré les propriétés agglutinantes du sang des sporotrichosiques, nous avons nous-même signalé (Soc. méd. des Hôp., 3 juillet 1908) dans ces sérums, la présence d'opsonines à pouvoir légèrement électif pour les spores de sporotrichum, et discuté la possibilité du retentissement de ces propriétés agglutinantes et opsonisantes l'une sur l'autre.

Il s'agit en effet de savoir si ces deux propriétés sont dans une dépendance étroite l'une vis-à-vis de l'autre, ou tout au moins, si l'agglutination impressionne à ce point l'opsonisation, que ce deuxième phénomène perd toute rigueur et toute valeur scientifique. Cet argument contre la méthode opsonique a déjà été formulé par Grieg Smith (1). Dans les conclusions de son travail l'auteur en arrive à identifier absolument les propriétés agglutinantes et les propriétés opsonisantes. Nous critiquerons cependant les deux arguments suivants qu'il invoque et dont nous n'avons jamais pu vérifier l'exactitude.

1° Destruction de l'agglutinine et de l'opsonine par le chauffage à 60 degrés ; 2° Augmentation du pouvoir opsonique et agglutinant, par dilution du sérum dans l'eau physiologique.

Il est bien évident à première vue que la phagocytose doive être plus facile, une fois que les bacilles ont été immobilisés ou agglutinés, mais s'ensuit-il qu'il faille mettre les opsonines sous la tutelle étroite des agglutinines, nous ne le croyons pas.

Résumons en quelques mots ce que l'on sait de la constitution des agglutinines, en particulier des agglutinines typhiques ; ces connaissances sont parfaitement exposées dans les travaux de Joos (2), Nicolle (3), D. de Blasi (4) et L. de Berardinis et Iversen (5).

---

1. Grieg Smith. *The probable identity of the opsonins with the normal agglutinins.* Proc Linnean Soc of New South Wales part 4, 29 novembre 1905.

2. Joos. Untersuchungen ueber die verschiedenen agglutinine der typhus serum. *Centr. f. Bact.*, t. XXXIII, 14 mai 1903, p. 762.

3. Nicolle. Suite d'expériences relatives au phénomène de l'agglutination des microbes. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1904, p. 209.

4. D. de Blasi et L. de Berardinis. Riserche sulle agglutinine del tifo. *Ann. ig. sper.*, t. XVII, 1903, p. 592.

5. Iversen. Ueber die schwankungen des agglutinationsvermægens des serums im Verlanfe des typhus abdominalis. *Zeit. f. Hyg.*, t. XLIX, 5 janvier 1905, p. 1.

Ces auteurs arrivent à cette conclusion que les agglutinines sont des substances constituées par un ambocepteur et un complément que l'on peut appeler respectivement agglutinophore et hémiagglutinine (constitution assez analogue à celle des opsonines.)

Si pour étudier la nature des liens unissant les agglutinines et les opsonines, on se reporte à l'étude des variations du pouvoir agglutinant dans la fièvre typhoïde, et qu'on les compare aux variations de l'indice opsonique, l'analogie s'accuse encore plus. Pour n'être pas accusé de négliger un seul argument, nous ne pouvons mieux faire que résumer ici le travail de Iversen (*loc. citat.*), sur les variations du pouvoir agglutinant du sérum, dans le cours de la fièvre typhoïde.

Pour cet auteur, dans la fièvre typhoïde légère, la courbe de l'agglutination s'élève lentement au début, pour atteindre son acmé à la fin de la période fébrile. S'il y a récidive, les propriétés agglutinantes du sérum apparaissent avec elle lorsqu'elles ont fait défaut pendant la première atteinte.

La convalescence s'accompagne parfois de la disparition des propriétés du sérum, d'autres fois le sérum est encore agglutinant plusieurs années plus tard.

Dans les cas mortels la courbe s'élève brusquement jusqu'au dénouement de la maladie.

Les complications, les formes atypiques, impriment des irrégularités à la courbe d'agglutination.

Nous ne voulons pas reprendre pas à pas la comparaison de ces conclusions et de celles que nous avons indiquées à propos des variations de l'indice opsonique. Les faits ne sont pas très exactement superposables, il ne s'agit surtout pas des mêmes malades et cette discussion nous entraînerait trop loin.

Mais, néanmoins, l'on est bien obligé de convenir que certaines variations du pouvoir agglutinant, signalées par cet auteur, se rapprochent de certaines modifications parallèles de l'indice opsonique, et, de ce premier ordre de faits, une certaine dépendance paraît se confirmer entre les agglutinines et les opsonines.

Mais nous allons énumérer maintenant toute une série de cons-

tatations qui semblent au contraire établir une indépendance assez sensible entre ces deux propriétés du sérum :

I. — Le pouvoir agglutinant du sérum n'est que peu ou pas modifié, par le chauffage à 60 même à 65, tandis que le pouvoir opsonique est presque totalement aboli, dès que le chauffage atteint 56 degrés.

Pourquoi, les microbes, qui sont cependant toujours agglutinés par un sérum ainsi chauffé, ne sont-ils plus phagocytés ? C'est qu'il manque à ce sérum une substance spéciale l'opsonine (nous avons déjà répondu aux auteurs qui disent le complément), ce qui prouve que l'agglutinine ne suffit pas à elle seule à favoriser la phagocytose.

II. — Le pouvoir agglutinant se manifeste même dans des dilutions considérables, il est fréquent de constater des agglutinations au 1/100 — 1/400. Dans des dilutions pareilles, nous avons vu que, depuis longtemps, l'opsonine avait disparu ; pour qu'un microbe soit phagocyté, il n'est donc pas nécessaire et suffisant qu'il soit agglutiné, il faut encore qu'il subisse *l'influence de l'opsonine.*

III. — Certains sérums, et nous en avons signalé souvent au cours de cette thèse, sont riches en opsonines, ont une phagocytose élective très nette, et cependant sont totalement dépourvus de pouvoir agglutinant ; dans ces sérums, le pouvoir opsonisant a précédé même parfois, l'apparition des agglutinines, c'est donc que ce pouvoir peut bien s'exercer en dehors des agglutinines.

IV. — Par contre, certains sérums, très fortement agglutinants, en quelques minutes au 1/50 au 1/100, sont très pauvres en opsonines ; c'est le fait constaté, au début de nombreuses de nos courbes ; et c'est le fait vérifié à chaque instant, sur les courbes des enfants, dont nous avons étudié l'indice opsonique. Comment, si les agglutinines déterminent et activent l'opsonisation, expliquer dans ces cas, la faible valeur de l'indice opsonique, comment, en un mot, ne pas observer un parallélisme rigoureux et parfait, entre la valeur des agglutinines et celles des opsonines ?

Nous ne nions pas la corrélation fréquente des deux propriétés du sérum, mais les multiples cas négatifs envisagés,

nous paraissent suffisants pour ne pas condamner les opsonines à une tutelle étroite envers les agglutinines, et nous autoriser à leur conserver une indépendance largement justifiée. Levaditi et Inmann croient aussi à une indépendance de ces deux propriétés : ils montrent que des macérations d'organes venant d'animaux inoculés ont un pouvoir agglutinant net, et nul pouvoir opsonisant. A cette conclusion se rangent aussi MM. Breton et Petit.

D'autre part, en ce qui concerne l'examen microscopique sur lame, on nous permettra bien de dire, qu'il est extrêmement rare de voir phagocyter un *amas* vrai de bacilles. Au contraire, et sans interpréter le fait, nous contentant de le signaler pour l'avoir maintes fois constaté, seuls les bacilles non encore agglutinés — sont englobés par les phagocytes, un à un. Il est vrai que l'on peut, néanmoins invoquer une action de l'agglutinine sur ces bacilles, action *sensibilisante*.

En résumé, nous croyons que les auteurs qui ont refusé toute existence aux opsonines, se contentant de les rattacher étroitement aux agglutinines, ont été trop loin.

Nous admettons bien que les agglutinines peuvent influencer le mécanisme de l'opsonisation, au même titre qu'un grand nombre d'autres facteurs, déjà énumérés, peut-être même d'une manière plus efficace, que certains de ces facteurs. Mais nous nous refusons à croire, en raison des objections que nous venons de présenter, et en raison des faits énumérés en diverses parties de ce travail, que les opsonines suivent les agglutinines, comme l'ombre suit le corps, que le pouvoir opsonique ne soit qu'une façon de traduire, d'interpréter le pouvoir agglutinant. Revenant à cette idée qui nous est chère, nous croyons que les diverses fonctions de l'organisme ne sont ni absolument indépendantes les unes des autres, ni strictement subordonnées les unes aux autres : elles sont en harmonie les unes par rapport aux autres.

2° Pouvoir bactéricide et opsonines dans la fièvre typhoïde

Le sérum des personnes atteintes de fièvre typhoïde exerce une action bactéricide vis-à-vis du bacille typhique, même après avoir été dilué dans de fortes proportions.

L'étude des propriétés bactéricides du sérum dans la fièvre typhoïde a fait l'objet de multiples travaux, parmi lesquels nous nous contenterons de citer ceux d'Evans (1), de Hahm (2), de Stern et Korte (3), de Korte et Steinberg (4), de Laubenheimer (5), de Ulrichs (6).

Il était intéressant de rechercher s'il pouvait y avoir un parallélisme quelconque entre ce pouvoir bactéricide et les opsonines.

Au point de vue technique, Wright signale la difficulté que l'on éprouve parfois à numérer exactement le nombre de bacilles phagocytés, à cause, dit-il, de la transformation en boules des bacilles (sphérulation, phénomène de Pfeiffer), qui est une traduction du pouvoir bactériolytique.

Rarement nous avons rencontré pareille difficulté. Le temps de contact, quinze minutes, nous paraît insuffisant pour que le phénomène se produise. Aussi n'est-ce pas à ce point de vue que nous allons étudier les actions réciproques du pouvoir bactériolytique, bactéricide et opsonique dans la fièvre typhoïde.

Voyons tout d'abord comment se comporte habituellement le pouvoir bactéricide dans la fièvre typhoïde.

---

1. Evans. « The variations in bactericidal value of the serum of the patients convalescent from the typhoïd fever. » *Journ. of path. and bact.*, août 1903, p. 42-56.

2. Hahm. *Ueber die bacterizide Wirkung des Menschischen Blutserum gegenuber typhus bacillen.* Breslau, 1904,

3. Stern et Korte. « Ueber den Nachweis der Bactericiden Reaction im Blutserum der typhus kranken. » *Berl. klin. Woch.*, 1904, p. 213.

4. Korte et Steinberg. *Arch. f. klin. Med.*, t. LXXXII, p. 296-320 et 321-339, 1905.

5. Laubenheimer. *Zeitschr. klin. Med.*, LVI, 1905, p. 170.

6. Ulrichs. *Die bactericide und agglutinierende Wirkung des Blutserum typhus kranker gegenuber typhus bacillen*, p. 685. Hygiène Rundschau.

Les conclusions de Stern et Korte (*loco citato*), sont les suivantes :

« Aucun rapport n'a pu être établi entre l'intensité du pouvoir bactéricide et la marche de la maladie, — pas davantage qu'entre ce pouvoir et la forme de la maladie, — suivant les cas, les résultats les plus dissemblables ont été obtenus, il semblerait cependant que ce *pouvoir baisserait à la convalescence*, ce serait là le seul fait constant. »

Or, ce dernier fait, est absolument opposé à celui constaté pour les opsonines. Ces auteurs nient en outre tout parallélisme entre ce pouvoir et le pouvoir agglutinant.

Dans son service du Bastion 29, M. le professeur Chantemesse et son élève, le Dr Boidin, ont étudié les variations de ce pouvoir bactéricide dans les fièvres typhoïdes traitées ou non traitées par le sérum. Il ne semble pas, d'après les résultats qu'ils ont bien voulu nous communiquer, que l'on puisse comparer ce pouvoir bactéricide au pouvoir opsonique. Aussi, croyons-nous pouvoir conclure très énergiquement, qu'il n'existe aucun lien unissant dans leurs effets ces deux propriétés du sérum.

3° Aggressines et opsonines dans la fièvre typhoïde

Le terme aggressine a été créé par O. Bail en 1905 (*Arch. f. Hyg.* t. LII, p. 272. Untersuchungen über typhus und cholera immunität) ; leurs principales propriétés peuvent se résumer ainsi : elles augmentent l'efficacité d'une dose de culture non mortelle ; elles exercent un rôle empêchant sur un sérum bactéricide ; elles peuvent provoquer chez les animaux un état réfractaire distinct de l'immunité bactérienne.

Dans un autre mémoire (*Wien. Klin. Woch.*, t. XVIII, 1905, p. 428) Bail émet l'opinion que cette immunité, acquise grâce aux aggressines, est caractérisée précisément par l'augmentation, dans des proportions considérables du pouvoir phagocytaire. Par ce côté de leur action, les aggressines, qui paraissaient au début devoir être les antagonistes des opsonines, semblent, ou bien associer, dans certaines conditions, leurs efforts à ceux des opsonines, ou plutôt réveiller indirectement l'activité même de ces

opsonines, cette dernière hypothèse nous paraissant plus plausible ; les propriétés des aggressines typhiques ont été étudiées à nouveau par G. Salus (1), Dœrr (2), Frederich (3).

Ce dernier auteur, en particulier a essayé de préciser les relations qui existent entre les opsonines et les aggressines : ses conclusions sont que ces actions réciproques doivent être minimes, si tant est que l'on soit en droit d'admettre, l'existence de ces aggressines, et la possibilité d'une immunité aggressique.

4° Opsonines et antiphagines

Décrites récemment par Tschistovitch (4) et Yourevitch, les antiphagines sont des substances sécrétées par les microbes et s'opposant à la phagocytose : elles ne perdent pas leurs propriétés, même chauffées une heure à 90, cette particularité les différenciant des aggressines de Bail ; en outre, si l'on ne considère comme aggressines que les substances ayant une action capable d'affaiblir l'organisme infecté, il serait à peine possible de ranger parmi elles les antiphagines, substances microbiennes défensives. Mais cependant, puisque Bail, Kikucki, Lévy, Fornet distinguent parmi les propriétés des exsudats agressifs, celle d'empêcher la phagocytose, il se peut que ces exsudats contiennent des antiphagines.

Quant aux relations des antiphagines et des opsonines, elles sont loin d'être encore déterminées.

Il est probable que les antiphagines sont élaborées par les microbes, comme produits de défense. Elles peuvent être des anti-opsonines, et la propriété acquise par les microbes pendant la vie dans l'organisme vivant, serait encore conservée pendant quelque temps dans les milieux de culture.

---

1. G. Salus. Neue biologische Beziehungen zwischen koli und typhus bacillen. Zugleich ein beitrag zùr lehre vom aggressine. *Arch. f. Hyg.*, t. LV, p. 335.

2. Dœrr. Zur frage der biologischen æquivalenz vom Bacterium coli und typhi. *Wien. Klin. Woch.*, t. XIX, p. 759, 870, 1038, 1081, année 1905.

3. Frederich. *Opsonins ùnd aggressins.* Albany M. Année 1906, p. 7, 30, 738.

4. Tschistovitch et Yourevitch. « Sur les opsonines et les antiphagines dans l'infection pneumococcique. *Ann. Inst. Past.*, juillet 1908, p. 610.

La supposition contraire que les opsonines seraient des anti-antiphagines peut également être admise.

Cette conception nouvelle entraîne donc, si elle est vérifiée, la nécessité de prendre en considération le rôle de ces antiphagines, dans l'appréciation des résultats de la détermination de l'indice phagocytaire.

5° Précipitines et opsonines dans la fièvre typhoïde

Cette étude des précipitines a parfaitement été mise au point, par Nuttal (1), Norris (2), Dopter (3), Pfeiffer et Moreschi (4), qui concluent à l'existence incontestable des précipitines spécifiques et établissent que le précipité résultant du contact, de précipitogène et de sérum précipitant, est susceptible de fixer une quantité considérable d'alexine *in vitro*, pour ces auteurs lisons, opsonines. *In vivo* ces auteurs ont également montré que s'il se forme un précipité, il se produit en même temps une paralysie de l'alexine avec atténuation des pouvoirs bactériolytique et *phagocytaire :* il ne s'agit pas là d'un simple fait de fixation de l'alexine (opsonine) sur les précipités, mais d'un phénomène d'ordre tout différent et de nature encore inconnue.

6° Pouvoir coagulant et opsonines

L'intérêt de l'étude comparative de ces deux propriétés ne réside que dans le fait suivant : comme le pouvoir coagulant paraît être sous la dépendance étroite des modifications leucocytaires, et comme un grand nombre d'auteurs fixent une origine leucocytaire aux opsonines, il est intéressant de rechercher si les variations de ces deux pouvoirs sont parallèles.

MM. Chantemesse et Boidin ont étudié ce pouvoir coagulant dans la fièvre typhoïde : d'après leurs recherches, il résulte qu'il est impossible de comparer entre elles, les propriétés coa-

---

1. Nuttal. *Blood immunity and Blood relationship, the precipitin test for blood*, 1904.
2. Norris. *Journ. of. inf. diseas*, mai 1904, p. 463.
3. Dopter. Soc. de biologie, 1905 et *Bull. Inst. Pasteur*, janv. 1906.
4. Pfeiffer et Moreschi. *Berlin. klin. Woch.*, 1906, p. 33-37.

gulantes du sérum, dans la fièvre, typhoïde, et les propriétés opsonisantes.

Nous ne voulons pas recommencer ici l'étude des rapports entre les *opsonines et l'alexine*, *la sensibilisatrice*, et nous allons terminer ce chapitre par l'exposé de quelques recherches personnelles effectuées dans le laboratoire de *M. le professeur Chantemesse* sur le *pouvoir* amylolitique, le pouvoir hémolytique, la résistance globulaire du sérum et du sang des typhiques, et leur comparaison avec le pouvoir opsonique.

7° Pouvoir amylolitique du sérum des typhiques et opsonines

Le pouvoir amylolitique du sérum, découvert par Magendie, Cl. Bernard, étudié par Bial, Cavazzani, Bourquelet, Gley, a été à nouveau recherché par MM. Achard et Clerc (Soc. de Biol., juin 1901) au cours de certaines affections, diabète, tuberculose, etc., et par MM. Nobécourt et Merklen chez les enfants et les nourrissons.

L'étude des variations de ce pouvoir a été reprise par M. Pariset (Th. de doctorat, 1906), M^lle^ Philoche (Th. 1908. *Recherches physico-chimiques sur l'amylase et la maltase*. Faculté des Sciences), MM. Ambard-Binet, Lœper et Ficaï (Soc. Biol., 1907-1908).

Nous devons à M. V. Henri l'idée de ces recherches : il nous a indiqué notre technique, nous incitant surtout à des examens en série afin de préciser : 1° la vitesse de réaction ; 2° l'influence des facteurs intervenant sur la réaction : voici cette technique.

5 centimètres cubes de sérum, recueillis aseptiquement, sont mélangés à 1/2 centimètre cube de solution de NaFl neutre à 3 0/0, et mis dans 50 centimètres cubes d'une solution d'amidon à 2 0/0 Les dosages en séries sont effectués après arrêt de la réaction, par ébullition en présence de lessive de soude, au moyen de la liqueur de Fehling au ferrocyanure dilué et à l'abri de l'air (Voir l'article très documenté, *Sem. Méd.*, janv. 1909, que MM. Ambard et Enriquez, consacrent à cette question.)

M. Bleichrœder (Soc. de Méd. int. de Berlin, 16 mars 1908)

signale un certain nombre de difficultés, telles que la présence dans le sérum, de jécorine, acide urique, glycuronique, substances capables de réduire la liqueur de Fehling et de fausser ainsi les résultats. Néanmoins cet auteur en diminue l'importance en signalant que le taux de sucre, normalement contenu dans le sérum, varie de 0, 053 0/0 à 0, 16 0/0, de préférence oscille entre 0,09 0/0 et 0,13 0/0.

Nous ne rapporterons pas ici tous nos résultats, ni sur la vitesse de réaction, ni sur l'influence des différents facteurs qui la font varier, nous contentant de signaler que ces résultats sont assez dissemblables de ceux obtenus dans nos recherches sur les opsonines ; nous allons simplement énumérer quelques résultats, les comparer à nos constatations relatives aux opsonines, et voir s'il existe quelques relations entre ces deux propriétés du sérum.

Ces résultats sont rassemblés dans le tableau suivant. Les chiffres inscrits dans la colonne 4 de ce tableau représentent la quantité de glucose formée en *vingt-quatre heures*, ramenée au volume total de 55 centimètres cubes (sans tenir compte de la quantité de sucre appartenant en propre au sérum employé).

En résumé, il ne semble pas que l'on puisse tirer de conclusions précises de ces recherches chez les typhiques. Ce pouvoir amylolytique est assez variable, suivant les sujets, et chez le même individu ne subit que peu de variations pendant la maladie. Il n'existe aucune relation, entre ce pouvoir et la valeur de l'indice opsonique ; dans certains cas ces deux principes du sérum paraissent aller de pair, tandis qu'ils semblent opposés dans d'autres cas.

8° Pouvoir hémolytique. — Résistance globulaire et opsonines chez les typhiques

Nous avons étudié cette résistance globulaire, en nous servant d'hématies déplasmatisées et non déplasmatisées et en employant les techniques préconisées par MM. Ribierre, Widal, etc.

Cette résistance globulaire a déjà été étudiée au cours de la fièvre typhoïde, par Pignatti Morano (*In. clin. Med. Ital.*, 1902). Pour cet auteur, la résistance moyenne est augmentée pendant

Pouvoir amylolitique du sérum dans la fièvre typhoïde

Nom du malade Quantité de sérum employée	Dates	Période de la fièvre typhoïde	Durée de l'expérience	Glucose transformé ramené à 55 c. c	Indice opsonique
5 c.c³ sérum Schonacker	15 fév.	Période de début, temp. 39°5, non injectée.	24 h.	0,13	3
	12 mars	2e convalscence.	24 h.	0,16	3,20
Houillé Marie sérum 5 c.c³	17 fév.	Période de début (hémorragie intestinale).	24 h.	0,080	4,20
	12 mars	2e convalescence.	id.	0,090	2,70
Cambr. f. Craplet sérum 5 c.c³	17 fév.	Début f. grave chez femme âgée.	id.	0,090	N'a pas été cherché. A remarquer cet indice faible dans cette forme traînante chez une femme âgée.
	3 mars	Forme un peu traînante.	id.	0,080	1,20
	19 mars	Toujours un peu de fièvre.	id.	0,075	1,50
Chautrel sérum 5 c.c³	11 mars	Début forme moyenne.	id.	0,16	1,90
Guérin sérum 5 c.c³	11 mars	Période d'état avant injection.	id.	0,11	2,10
	18 mars	id.	id.	0,17	4,20
	19 avril	Convalescence.	id.	0,14	3,20
Domergue sérum 5 c.c³	18 mars	Période de début.	id.	0,16	1,80
	19 avril	Convalescence.	id.	0,18	3,50
Laviel sérum 5 c.c³	18 avril	Période d'état.	id.	0,17	2,20
Tartr. sérum 5 c.c³	20 avril	F. grave début.	id.	0,20	2
Lesaché	21 avril	Convalescence.	id.	0,085	2,70
Golys	21 avril	Convalescence.	id.	0,11	N'a pas été cherché.
Emeis	22 avril	Fin période d'état.	id.	0,14	id.
5 c.c³ de sérum de cheval immunisé. Donato	14 fév.		id.	0,33	Pouvoir opsonique. *12*
5 c.c³ lapin C', voir courbe lapin injecté bacilles.	14 fév.		id.	0,20	Indice 3,60
5 c.c³ lapin immunisé	9 mars		id.	0,22	3,90
5 c.c³ chien normal	16 avril		id.	0,40	0,90

la période grave, normale dans la convalescence ; la résistance minima est très irrégulière, augmentée à la période d'état, puis abaissée et normale à la convalescence. Tous ces renseignements se trouvent exposés, dans l'excellente thèse de M. Gaudeau (Th. de Paris, 1906).

Rappelons qu'en ce qui concerne le pouvoir hémolytique, la plupart des auteurs admettent que le sérum normal amène un début d'hémolyse à 4 gouttes et une hémolyse complète à 12 gouttes. Pour Pagniez, au contraire, il suffirait de 5 gouttes pour provoquer une hémolyse totale : quant à la résistance globulaire, normalement elle serait la suivante : R1 ou résistance minima entre 0,44 et 0,48, R2 ou R. maxima entre 0,32 et 0,30.

Nous avons groupé tous nos résultats dans le tableau suivant:

Les conclusions à tirer de l'examen de ce tableau sont assez pénibles à dégager ; tout au plus, est-on en droit de dire que l'hémolyse est plus prompte à la période d'état. H1 débute en général avec 2 à 3 gouttes, tandis qu'à la période de déclin, il faut 4 gouttes.

De même R1, serait plus souvent diminué à la période de début, sauf les cas où il y aurait ALBUMINURIE : R1 = 0,40. Cette particularité, mériterait d'être contrôlée par de nouvelles recherches AU COURS DES NÉPHRITES.

Enfin, nous ne trouvons aucune relation, entre les variations considérables du pouvoir opsonique et les variations minimes de ces processus hémolytiques.

Rappelons enfin que M. Gaudeau signale un pouvoir hémolytique diminué chez l'enfant, comme nous avons trouvé nous même un pouvoir opsonique diminué :

En résumé, s'il paraît bien établi que le pouvoir hémolytique dépend essentiellement de la richesse du sérum en alexine, il en résulte que l'on ne peut en dire autant du pouvoir opsonique. C'est constater, une fois de plus, que ce pouvoir n'est pas tellement subordonné à l'alexine, comme certains auteurs l'ont prétendu.

De cette étude sur les rapports réciproques de certaines subs-

Pouvoir hémolytique. — Résistance globulaire. — Opsonine dans la fièvre typhoïde (hématies de lapin)

Nom des malades	Dates	Période de la maladie	N. de gouttes des néc. pour obt. H^1	Pour obtenir H^2	Pour obtenir H^3	Valeur de R1	Valeur de R2	Etendue de R.	Indice opsonique
1 Charbonn. non injecté sérum	25 nov. 1907	pér. d'état	3-4	10	16	0,42	0,32	10	n'a pas été cherché
2 Massenet après injection	26 nov. 1907	pér. d'état	2	5	9	0,44	0,34	10	id.
3 Filipi	27 nov.	début f. gr. hémorragies	2-3	6	8	0,48	0,34	14	1.70
4 Bouche	27 nov.	pér. d'état *subictère*	3	8	11	0,48	**0,42**	**6**	*3*
5 Déliz.	*28 nov.*	période de début	3	8-10	16	0,46	0,34	12	1.50
6 Klein	*4 déc.*	période de déclin	4	10	16	0,46	0,32	14	4
	21 déc.	convalesc.	4	8	11	0,46	0,34	12	4.60
7 Lecomt. Georges	*8 janvier*	pér. d'état	3-4	6	10	0,48	0,34	14	2.90
8 Schonach. Gotfr.	14 février	pér. d'état	2	7	9	0,46	0,30	16	3
	12 mars	*convalesc.*	4	10	14	0,50	0,30	**20**	3.20
9 H. n° 18 néphro-typhus	14 février	début	3	5	9	**0,40** *albumine dans urine*	0,36	6	n'a pas été cherché
10 Houillé Marie	16 février	pér. d'état hémor. f. gr.	4	8	10	0,46	0,32	14	2.50
	12 mars	convalesc.	3	8	12	0,48	0,34	14	2.70
11 Cambra. femme âgée. voir tableau précédent	*16 février*	pér. de début	3-4	6	8	0,50	0,32	18	n'a pas été ch.
	3 mars	stade amphibole	2	4	8	0,50	0,36	16	1.20 f. traînante ch. femme âgée
	19 mars	f. prolongée presq. conv.	2	5	8	0,48	0,30	18	1.50
12 Guérin	11 mars	pér. d'état	3	6	9	0,46	0,30	14	2.10
	18 mars	id.	2	4	6	0,48	0,32	16	4.20
	18 avril	*convalesc.*	4	6	7	0,46	0,32	14	3.10
13 Domergue	19 mars	état	3	4	6	0,44	0,30	14	1.80
14 Laviell.	17 avril	état	2	4	9	0,46	0,32	14	2.20
15 Bader Mur.	17 avril	début	1	3	5				2.10
16 Tartien H.	19 avril	début f. grave	2	4	5	**0,40** albumine dans urine	0,32	8	2
17 Jurb. Laure	19 avril	f. grave état	4	8	14	0,44	0,30	14	n'a pas été cherché
18 Lesaché	20 avril	*convalesc.*	3	5	7	0,44	0,34	10	id.
19 Goby	20 avril	*convalesc.*	3	6	10	0,46	0,32	14	2.40

tances du sérum, il nous semble se dégager LES CONCLUSIONS suivantes :

Les agglutinines et les opsonines ont de nombreux points de contact, et les premières certes influencent beaucoup les secondes, sans toutefois, que l'on puisse affirmer une dépendance absolue, entraînant la négation des opsonines.

Quant aux autres substances, leur action directe sur les opsonines est moins nette, moins importante ; en résumé toutes ces propriétés successivement décrites dans le sérum, agissent concurremment, se complètent les unes les autres, unissant leurs efforts dans une cohésion suffisante et parfaite, qui réalise l'harmonie et la vie.

Nous voici parvenu au terme du programme que nous nous étions tracé au début de ces recherches : primitivement, en effet, nous devions nous en tenir là ; mais nous avons eu, dans la suite, l'occasion d'étudier les opsonines dans la sporotrichose, la diphtérie, et il nous a paru intéressant de consigner ces nouveaux résultats : ainsi le cadre de ces recherches s'agrandissait. Naturellement nous avons été entraîné, petit à petit, à terminer ce travail par une sorte de revue générale des variations connues, de l'indice opsonique, au cours des différentes maladies Cette rapide énumération va constituer la 3e partie de notre thèse.

Troisième Partie

INDICE OPSONIQUE AU COURS DE DIFFÉRENTES MALADIES INFECTIEUSES

Sporotrichose, diphtérie, tuberculose, méningite cérébro-spinale, charbon, peste, etc.

1° Opsonines et Sporotrichoses

A la suite de MM. Widal et Weil, ayant démontré la présence de sporotrichum dans le sang, et de MM. Widal et Abrami ayant mis en évidence l'agglutination des spores de sporotrichum par le sérum des sporotrichosiques, nous avons exposé à la Société médicale des Hôpitaux (3 juillet 1908) nos résultats sur la recherche des opsonines chez les sporotrichosiques.

Nous avons employé la méthode de Wright et Douglas, l'émulsion de spores était préparée suivant la méthode indiquée par M. Widal pour réaliser l'agglutination (émulsion peu concentrée).

Nous avons montré : 1° Qu'il existait une phagocytose spontanée sans l'aide du sérum pour les spores du sporotrichum.

Cette phagocytose pour 15 minutes de contact est de 0,20 en moyenne.

2° Les sérums d'individus normaux, facilitent et exagèrent cette phagocytose, c'est-à-dire contiennent des opsonines, qui peuvent sensibiliser la spore du sporotrichum.

Trois sérums normaux ont donné un pouvoir de 0,56, 0,60, 0,63 pour une émulsion assez faible.

3° Le sérum d'individus sporotrichosiques ou d'animaux inoculés, traités ou non par l'iodure de K. contient, d'une manière élective, des opsonines pour ces spores ;

Quatre sérums examinés ont présenté des pouvoirs de 0,80 à 1,40, c'est-à-dire des indices, de 2,20 à 1,30.

4° Le chauffage fait à peu près disparaître toutes ces opsonines qui sont donc thermolabiles en totalité ;

5° Les dilutions de sérum, contiennent encore des opsonines à $\frac{1}{60}$.

2° Opsonines dans la diphtérie

Parmi les bacilles qui ne subissaient pas l'influence des opsonines, Wright avait signalé le bacille de Lœffler.

Contrairement à cette opinion, Ruth Tunnicliff (The opsonic index in diphteria. *Journ. of infect. diseases*, V, 14, 22, 1908) pense avoir démontré que le bacille de Lœffler est sensible à l'action des opsonines ; voici ses conclusions : La phagocytose d'une émulsion de ces bacilles est activée par la présence du sérum d'un individu normal ; cette phagocytose serait même activée par ce sérum chauffé.

Cet auteur a étudié les variations de l'indice opsonique au cours de la diphtérie. Au début de l'affection la valeur de l'indice est *au-dessous* de la normale. Mais très rapidement cette valeur s'élève, pour devenir assez considérable, au moment où les fausses membranes se détachent, où la température s'abaisse, en un mot, au moment où le malade guérit.

Nous avions été séduit par ces recherches, et comme il nous était possible, soit à la crèche du Bastion 29, soit à l'hôpital des Enfants-Malades, de répéter en série pour la diphtérie, ce que nous avions fait pour la fièvre typhoïde, nous avions entrepris une série d'expériences : 1° sur la phagocytose spontanée du bacille de Lœffler ; 2° sur le pouvoir opsonique de sérums normaux envers ce bacille ; 3° sur les variations de l'indice au cours de la diphtérie, et surtout sur l'effet rapide, immédiat, du sérum de Roux.

Nous confessons l'échec de toutes ces expériences. Pour une raison qui nous a totalement échappé, nous n'avons jamais obtenu de préparations, dont la lecture au microscope, nous ait paru suffisamment nette et convaincante.

Tout au plus, de ces recherches, pouvons-nous tirer les enseignements suivants : 1° Nous servant d'une émulsion dans l'eau physiologique, de bacilles de Lœffler (longs) âgés de vingt heures, bacilles virulents et très nets au microscope, presque chaque fois, après l'expérience d'opsonisation, nous avons retrouvé sur nos lames des bacilles fragmentés, méconnaissables, à ce point que toute numération était impossible.

La raison exacte de ce fait nous échappe, et nous ne savons comment l'auteur ci-dessus cité a pu échapper à cet écueil que nous avons presque toujours rencontré. Quoi qu'il en soit, lorsque nous avons cru être en présence d'une expérience à peu près réussie, il nous a paru :

1° Que le bacille de Lœffler, était influencé, mais faiblement par les opsonines ;

2° Que le sérum de Roux ne paraissait pas contenir d'opsonines spécifiques d'une manière appréciable.

Nous ne nous permettrons pas d'autres conclusions, au moins d'après le résultat actuel de nos recherches personnelles, résultat négatif, dû, peut-être, nous l'avouons, à une particularité de technique (1) que nous ignorons, en ce qui concerne l'opsonisation du bacille de Lœffler.

3° Opsonines dans la tuberculose

Valeur Diagnostic. — Pronostic. — Applications à la thérapeutique

Méthode des vaccins de Wright

Cette question a surtout été étudiée par Wright et a fait l'objet de la plupart des mémoires de cet auteur.

En Allemagne, elle a donné lieu à d'importantes recherches de Sauerbeck, Strubell, Weinstein, Kæmmerer ; en France elle a fait l'objet d'un rapport de M. Jousset à la Société d'études scientifiques sur la tuberculose (1907), d'un article de Levaditi (*Presse Médicale*, sept. 1907 et d'une revue du Dr Ricklin (*in*

1. Peut-être se passe-t-il là quelque chose d'analogue à ce que nous signalerons plus loin à propos de la méningite cérébro-spinale.

Revue internationale de clinique et de thérapeutique, février 1908).

a) *Diagnostic opsonique dans la tuberculose.* — La valeur du pouvoir opsonique du sérum d'individus normaux pour le bacille de Koch, oscillerait entre 0,80 et 1,20 d'après Wrihgt, serait autour de 0,95 d'après Bulloch, de toute manière, par conséquent très proche de l'unité.

Connaissant cette première valeur, on est alors en droit de se demander si l'on peut attribuer une importance « diagnostic » aux variations de l'indice opsonique, suivant les sujets, en d'autres termes s'il existe un diagnostic opsonique dans la tuberculose, d'une manière analogue au diagnostic opsonique dont nous avons discuté l'existence et la valeur dans la fièvre typhoïde. Pour Wright le fait n'est pas douteux : supposons en effet le cas d'une personne suspecte de tuberculose ; la détermination de l'indice opsonique, répétée un certain nombre de fois, accuse des valeurs normales ; l'hypothèse d'une infection tuberculeuse doit être écartée.

Si l'indice au contraire accuse des valeurs sub-normales, on en conclura que l'intéressé est atteint, soit d'une *affection tuberculeuse circonscrite*, soit d'une *infection tuberculeuse latente*.

Les observations publiées par Bulloch (The treatment of tuberculosis by tuberculine. *Transactions of royal medic-chirurg. Society*, 1906, p. 69) ont largement confirmé cette règle.

Ainsi dans 150 cas de lupus, la valeur moyenne de l'indice opsonique a été trouvée égale à 0,75 (limites extrêmes, 0,2–0,3 et 1,4) et dans 75 0/0 des cas elle était inférieure à 0,8, alors que chez des sujets normaux, sa valeur moyenne a été trouvée égale à 0,96.

Dans 11 cas de tubercules anatomiques, le pouvoir opsonique atteignait des valeurs comprises entre 0,3 et 0,8.

Dans 11 cas de tuberculose pulmonaire ayant fait l'objet d'une cure dans un sanatorium, et où l'affection tuberculeuse pouvait être considérée comme enrayée, les valeurs de l'indice opsonique ont été trouvées comprises entre 0,4 et 0,86. Autrement dit, le processus tuberculeux avait été ramené à l'état d'infection localisée.

Les tuberculoses chirurgicales possèdent toutes un indice bas, qu'il s'agisse d'adénopathies, d'arthropathies, etc.

La mesure de l'indice opsonique présente dans la tuberculose pulmonaire une fixité bien moindre que dans les tuberculoses locales. Les mensurations de Wright donnent comme chiffres extrêmes 0,3 à 1,8 ; celles d'Urwick atteignent même 2,6

En résumé, au point de vue diagnostic, un faible pouvoir opsonique (0,3 à 0,8) signifie tuberculose. Sa constatation, plusieurs fois répétée, indique presque à coup sûr une tuberculose locale. Par contre, un indice opsonique élevé, pris isolément, ne possède en lui-même aucune signification diagnostique. Sa constatation oblige à construire une courbe qui, si elle est régulièrement élevée, indique une infection tuberculeuse antérieure bien guérie, ayant, dans une certaine mesure, vacciné l'organisme et qui, si elle est alternativement haute et basse, indique une tuberculose en pleine marche et dont l'activité se mesure en quelque sorte à l'amplitude des oscillations.

b) *Valeur pronostique.* — Le pronostic de la tuberculose est fonction d'éléments trop multiples pour qu'il soit possible, par une méthode unique, d'en donner la formule ; cependant, tout en laissant le pas à la clinique, c'est-à-dire à l'examen total du malade lorsqu'il s'agit d'établir un pronostic, disons que de tous les procédés de laboratoire, c'est la méthode de Wright qui approche le plus de la vérité pronostique. Elle l'emporte de beaucoup à ce point de vue sur l'étude de la courbe thermique, de la leucocytose, de l'agglutination, de l'examen des crachats, pour ne citer que les principaux de ces moyens.

Lorsqu'on voudra tirer une indication pronostique de l'examen d'une courbe opsonique, on devra considérer la forme et la hauteur de celle-ci, la stabilité de l'indice opsonique et son élévation

La stabilité de l'indice, quelle qu'en soit la valeur, indique un arrêt dans la marche de la tuberculose, sa tendance à la localisation, à l'enkystement. Les variations de la courbe opsonique annoncent, au contraire, une tuberculose en pleine activité, et, partant, un pronostic détestable.

La valeur de l'indice n'a par elle-même d'importance pronostique que si la courbe est déjà régulière. Son élévation n'est de

bon augure que si elle est persistante. Il en est d'elle, à certains égards, comme d'une courbe barométrique dont il importe, avant tout, de considérer la régularité.

Un phtisique qui marche vers la guérison, stabilise son indice au voisinage de l'unité (0,8). Si l'on veut confirmer cette guérison, atteindre ou dépasser l'unité, on est en droit d'user des inoculations (Meakin et Wheeler). Ce sont les seuls cas favorables à la méthode, dont Wright se défie généralement pour la tuberculose pulmonaire.

Relativement aux indications pronostiques que peut fournir cette évaluation de l'indice, il faut signaler la constatation suivante de Bülloch : quand chez un sujet atteint de lupus, l'indice opsonique était au-dessous de 0,8, la finsenthérapie donnait des résultats décevants : cette médication provoque en effet une transsudation de plasma ; si ce plasma est pauvre en opsonines, il ne se produit aucune amélioration de l'état local.

c) *Applications thérapeutiques.* — C'est la thérapeutique qui a été la raison d'être de la méthode opsonique : d'après Wright, les déboires fournis autrefois par la tuberculine tiennent en partie à ce que l'on ne dispose pas d'un moyen suffisant pour en apprécier l'action intime sur l'organisme. L'étude de l'immunité en général démontre que toute vaccination est suivie d'un abaissement de la résistance de l'économie, auquel succède plus ou moins rapidement (cela dépend de la dose) une réaction, c'est-à-dire une surélévation de cette résistance qui dépasse l'état primitif ; or, à vouloir inoculer au hasard, on risque d'opérer en pleine phase de dépression et d'observer un cumul d'effets toxiques et des catastrophes. Mais comment estimer ce « flux et ce reflux », cette marée montante de l'immunité et, pratiquement, le moment opportun des réinoculations ?

Il n'y a, pour pénétrer les secrets de l'immunité et en apprécier la valeur, aucun critérium qui vaille l'examen du sang et la mesure directe de son pouvoir protecteur. Or, quelle que soit la théorie de l'immunité (cellulaire ou humorale) que l'on adopte, c'est le pouvoir « phagogène » ou opsonique du sérum qui nous en donne la formule la plus approchée. A l'aide de cette méthode opsonique, Wright (1) édifia les règles de sa *vaccinothérapie.*

1. Wright, selon ses déclarations explicites, a employé le terme *vaccin* dans le

(moment opportun de refaire une nouvelle vaccination. phase positive, phase négative). Spécialement en ce qui concerne la tuberculose, il employa comme vaccin la nouvelle tuberculine de Koch.

Il généralisa sa méthode et l'étendit à presque toutes les maladies infectieuses. Nous avons cru utile d'indiquer le mode de préparation d'un de ces vaccins, par exemple, celui dont il se sert dans les infections staphylococciques.

On prépare une culture de staphylocoques et on expose cette culture à une température de 60 degrés, ce qui a pour effet de la stériliser, de priver de vie les germes virulents. Si cette culture ne doit pas servir immédiatement, on l'additionne d'un peu de lysol, afin d'en assurer la conservation.

Au moment de faire une inoculation, on procède de la façon suivante :

On mélange intimement un volume de sang humain normal, un volume de vaccin (c'est-à-dire de la culture susdite), et trois volumes d'une solution de chlorure de sodium. Avec le mélange on fait des préparations que l'on colore ; on les examine au microscope, pour déterminer, au préalable, le nombre approximatif de bactéries contenues dans un volume déterminé de vaccin. Supposons que dans le champ du microscope, on compte un nombre N' de bactéries, et un nombre N de globules rouges. On sait que dans les circonstances normales, 1 millimètre cube de sang contient environ 5.000.000 de globules rouges. En désignant par X le nombre de bactéries contenues dans 1 millimètre cube, on pourra dès lors, établir la proportion suivante : $\frac{5.000.000}{x} = \frac{N}{N'}$. Rien n'est plus facile que de dégager de cette égalité la valeur de x.

Une fois cette valeur connue, on procédera à une première inoculation de vaccin, dosée de telle sorte que le nombre de bactéries injectées soit, approximativement, de 2.500 millions. Cette dose sera augmentée, lors des injections suivantes. Mais avant de procéder à celles-ci, il importe d'être fixé sur la manière

---

sens de « suspension de micro-organismes, stérilisée et titrée » (*a sterilised and standardized suspension of micro-organisms*).

dont l'organisme du malade réagit à ces inoculations vaccinales.

D'après Weinstein, Wright, grâce à cette méthode de vaccinothérapie contrôlée sans cesse par la mesure de l'indice opsonique, des résultats surprenants auraient été obtenus dans la *furonculose*, l'*acné*, le *sycosis*, et ces auteurs insistent longuement sur les modifications de l'indice opsonique au cours de toutes ces staphylococcies.

4° Maladies tuberculisantes et opsonines tuberculeuses

L'idée de ces recherches nous est venue à l'occasion d'une leçon faite par M. le professeur Hutinel, sur *rougeole et tuberculose* (1).

A la suite de M. Von Pirket, M. Hutinel constatait que les rougeoleux ne présentaient jamais de cutiréaction ou d'intradermoréaction positives à la tuberculine. Il rappelait l'ingénieuse hypothèse imaginée par Von Pirket pour expliquer ce fait. Le poison morbilleux fixe sans doute les anticorps microbiens tuberculeux : ainsi s'explique l'absence de réaction positive à la tuberculine, et au contraire le coup de fouet donné à une tuberculose jusque là latente, qui va pouvoir éclore, se développer sans être gênée par la présence de ces anticorps microbiens.

Telle serait l'action favorisante de la rougeole, sur le développement possible d'une tuberculose.

Toute ingénieuse et élégante qu'elle est, cette hypothèse ne contient pas toute la vérité, car, par exemple, dans la coqueluche, cette autre maladie tuberculisante, la cutiréaction et l'intradermoréaction à la tuberculine sont positives dans les proportions normales, car enfin, cette absence de réaction est également notée au cours des érythèmes sériques, nullement tuberculisants.

C'est pourquoi nous avons songé à rechercher, si dans les maladies spécialement tuberculisantes (fièvre typhoïde, rougeole, coqueluche), nous n'observerions pas de modifications

---

1. Rougeole et tuberculose. *Journal des Praticiens*, déc. 1908.

constantes, du pouvoir opsonique des sérums envers le bacille de Koch.

Voici le résultat de ces expériences :

	Pouvoir opsonique pour le bacille de Koch
Sérum normal.....	0,95
Sérum de coqueluche.....	0,90
—	0,75
—	0,80
Sérum de rougeoleux.....	0,75
—	0,85
Sérum de fièvre typhoïde, période d'état.....	1,04
—	1,10
Convalescent.....	1,08
—	1,50

L'action tuberculisante de ces maladies ne s'explique donc pas non plus, par une modification intéressant spécialement les opsonines.

Les recherches suivantes, dans lesquelles fut étudié le pouvoir opsonique envers le bacille de Koch au cours de diverses affections non tuberculisantes, viennent encore confirmer ces résultats :

	Pouvoir opsonique pour le bacille de Koch
Sérum normal.....	0,90
Sérum de scarlatine, éruption....	0,50
— convalescence	0,70
Sérum de varicelle, en pleine éruption.....	0.60
Sérum d'angine herpétique.....	0,60
Sérum d'angine diphtérique.....	1
—	0,90
Sérum d'érysipèle de la face en pleine fièvre.....	1.10
—	0,90
Sérum d'érysipèle de la face, convalescent.....	0,85

Nous y trouvons signalés au cours de scarlatine, de varicelle, des abaissements de ce pouvoir opsonique, encore plus considérables que dans la rougeole et la coqueluche ; nous ne croyons donc pas, d'après ces premiers résultats, que ce soit par une

modification portant sur les opsonines spécifiques, que les maladies tuberculisantes exercent leur action.

5° Méningite cérébro-spinale et opsonines

Cette question a été étudiée par Davis, Taylor, Houston et Rankin (*in Lancet*, 1907).

Au point de vue technique, Taylor montra qu'il fallait se servir de cultures de méningocoques très jeunes (sept à huit heures) sinon, pendant le séjour à l'étuve les micro-organismes dégénèrent ; les sérums normaux phagocytent à l'extrême les vieilles cultures, tandis que seuls, les sérums d'individus atteints de méningite, ont un pouvoir opsonique électif vis-à-vis le méningocoque en culture jeune.

Les conclusions de cet auteur sont les suivantes :

1° En cas de méningite, on observe un indice opsonique très élevé (valeur diagnostique) : l'auteur ajoute cependant que la constatation d'un indice normal n'exclut pas l'idée de méningite ;

2° A l'aide de cette réaction opsonique et de la séro agglutination combinées, il serait possible de différencier quel est exactement le germe incriminé.

Houston et Rankin étudient une épidémie de 114 cas de méningite cérébro-spinale (*in Lancet*, 1907), au double point de vue des relations du pouvoir opsonique et agglutinant : dans 97 0/0 des cas ils ont trouvé coexistantes les deux propriétés ; la chaleur détruisait l'opsonine et non l'agglutinine ; enfin, le liquide cérébro-spinal était pauvre à la fois et en agglutinine et en opsonine.

6° Indice opsonique et bactériothérapie dans la vulvo-vaginite des petites filles

Churchil et Soper, Buttler et Longs, ont appliqué la vaccinothérapie, suivant la méthode de Wright, au traitement de la vulvo-vaginite des petites filles. Ils contrôlaient l'effet utile provoqué par leurs vaccinations, à l'aide de la mesure de l'indice opsonique. L'étude attentive de cet indice ne leur a pas permis de

poser des règles absolues; néanmoins, il semble que le meilleur effet utile se produit quand la vaccination n'amène pas une phase négative, et que d'emblée au contraire on assiste à une élévation de la valeur de cet indice (phase positive).

7° Charbon et opsonines

MM. Guillain, Boidin et Fiessinger ont étudié les opsonines dans un cas de charbon (*Soc. de Biologie*, t. LXIII, p. 308 et 349, 12 et 19 oct. 1907).

Au trente-huitième jour de l'infection, l'indice opsonique est faible 1,16.

Expérimentalement J.-G. Sleeswijk (Contribution à l'étude des opsonines. *Ann. Inst. Past.*, décembre 1907, p. 983-990) étudie également les propriétés du sérum de grenouille vis-à-vis le bacille charbonneux.

8° Opsonines du sérum antipesteux et du sérum normal vis-à-vis le bacille de la peste.

Wadoux (Soc. de Biologie, nov. 1907) constate que si l'on inocule dans le péritoine des cobayes, des bacilles pesteux en même temps qu'un sérum spécifique, l'indice opsonique croît en proportion des quantités de sérum injectées. L'auteur pense, en outre, que cette détermination de l'indice opsonique *in vivo*, vis-à-vis du bacille pesteux, en présence de quantités variables de sérum, pourrait permettre d'apprécier l'activité d'un sérum antipesteux.

9° Opsonines et tick-fever

Levaditi et Roché ont étudié le mécanisme de la crise dans le tick-fever : ils ont montré que les opsonines n'apparaissaient en quantité notable dans le sérum que trente-six heures après la crise.

Ces opsonines particulières seraient totalement thermostabiles.

10° Scarlatine et opsonines

Banks (the variations in scarlet fever of the opsonic power of streptococci. *Journ. path. and Bact.*, 1908) étudie les variations de

l'indice opsonique, vis-à-vis le streptocoque dans la scarlatine.

Il y aurait une courbe constante avec diminution de la valeur de l'indice à la période fébrile, puis élévation au-dessus de la normale, à la défervescence, avec retour à la normale vers la quatrième ou la cinquième semaine.

Une angine grave, l'apparition d'une néphrite grave, abaissent la valeur de l'indice, phénomène du plus haut intérêt pronostic, ces résultats sont les mêmes, quels que soient les streptocoques employés.

11° Opsonines et erysipèle

Pendant notre séjour au Bastion 29, nous avons essayé d'étudier l'indice opsonique dans l'érysipèle, mais la difficulté matérielle de se procurer un streptocoque toujours identique, la difficulté même de le cultiver et de le conserver, nous a empêché de poursuivre ces recherches. Nos premières expériences paraissaient montrer au début une phase négative assez nette, puis une sorte de crise avec élévation considérable de la valeur de l'indice, au moment de la guérison.

12° Opsonines et pneumonie

L'accord n'existe pas entre les différents auteurs qui ont étudié les opsonines dans la pneumonie. Potter et Krumwiede (1) signalent une augmentation des opsonines au moment de la crise : cette augmentation est niée par Rosenow (2) qui trouve au sérum des pneumoniques un pouvoir opsonique indifférent.

13° Diabète et opsonines

Tout récemment, M. Nattan-Larrier, frappé de la gravité et de la fréquence des suppurations chez les diabétiques, s'est demandé si l'on ne trouverait pas l'explication de ce fait dans une modification des opsonines chez les diabétiques.

De ses premières recherches il semble résulter que très sou-

1. Potter et Krumwiede. *Journ. of. inf. diseases.* nov. 1907, p. 595.
2. Rosenow. *Transact. of. Chicago.Path. Soc.*, VII, 55-66, 1907.

vent ce pouvoir opsonique est abaissé chez les diabétiques ; s'agit-il d'une action inhibitrice due au glucose et s'exerçant sur le mécanisme même de l'opsonisation ? s'agit-il d'une diminution réelle de ces opsonines, c'est ce que l'auteur ne dit pas.

14° Etats thyroïdiens et opsonines

Dans une série de notes présentées à la Société de Biologie, 1907-1908, M. Marbé étudie les relations qui existent, entre la teneur d'un sérum en opsonines et le fonctionnement du corps thyroïde. D'une manière générale, il y a diminution d'opsonines dans les états d'hypothyroïdie (myxœdèmes, animaux éthyroïdés).

Expérimentalement, au contraire, on obtient une augmentation d'opsonines par une greffe de corps thyroïde. Cliniquement il serait intéressant de poursuivre ces recherches dans le goitre exophtalmique (hyperthyroïdie, ou dysthyroïdie) et dans tous les syndromes d'insuffisance glandulaire, ou pluriglandulaires.

Nous ne nous dissimulons pas combien cette revue générale des variations de l'indice opsonique au cours des différentes affections est incomplète. En ce qui concerne la syphilis par exemple, du jour où l'on sera arrivé à cultiver le tréponème, l'étude opsonique du sérum des syphilitiques rendra les plus grands services : elle viendra guider et contrôler le traitement mercuriel, elle permettra de prévoir l'apparition d'accidents, ou *l'imminence* d'accidents, notions du plus haut intérêt, en vue de l'autorisation du mariage chez le syphilitique.

Signalons également les propriétés opsonisantes des sérums de cancéreux constatés par *Doyen* vis-à-vis le micrococcus néoformans (?) (Soc. biol., 1908. Congrès de Genève, 1908.)

Il est hors de doute enfin, que dans les affections les plus diverses, telles que muguet, actinomycose, etc., cette méthode pourrait trouver son application.

Quatrième Partie

MÉTHODE OPSONIQUE. — VALEUR. — APPLICATIONS

Parvenu au terme de cette étude des opsonines, avant de condenser en quelques lignes les conclusions auxquelles nous croyons être arrivé, essayons, dans une vue d'ensemble, de résumer les faits signalés et d'envisager au point de vue pratique d'abord, la valeur de la méthode opsonique en elle-même, puis les applications de cette méthode au diagnostic, au pronostic, à la thérapeutique.

Valeur de la méthode en elle-même.

Ce qui se dégage tout d'abord, c'est le manque de précision, et de rigueur scientifique de la méthode employée; longuement nous avons détaillé tous les temps de l'opération, tous les écueils à éviter, tous les faits qui peuvent plus ou moins venir influençer le résultat final : nous y revenons à nouveau, non pour condamner la méthode, mais pour en rappeler la difficulté, l'exécution, et même l'interprétation, pour rappeler au lecteur, qu'il ne s'agit nullement, dans les résultats obtenus, de chiffres ayant une valeur absolue comme en mathématique, mais de chiffres exprimant des à peu près, des valeurs surtout comparatives.

L'esprit scientifique est fait de précision, de rigueur, aussi cette formule le contente-t-elle mal, mais il doit néanmoins l'admettre, car elle est la traduction rigoureuse des faits observés.

Si la rigueur absolue des méthodes employées et des résultats obtenus est le fond même des sciences dites exactes, il ne peut plus en être ainsi dans l'étude des phénomènes biologiques.

Trop d'éléments entrent ici en ligne de compte, trop d'éléments divers, les uns connus, les autres à peine soupçonnés,

certains perdus encore dans le mécanisme intime des phénomènes biologiques.

Les phénomènes vitaux sont trop complexes pour être assimilés, soit à des expériences de physique, soit à de pures réactions de chimie : mettre en schéma un phénomène vital, en équation un acte physiologique, c'est oublier que l'essence même de ce phénomène, de cet acte, est l'impossibilité de cette réduction au schéma et à l'équation, à cause de cet élément primordial, *l'être vivant*.

En conséquence, ne demandons pas à la méthode ce qu'elle ne peut donner ; et considérons les renseignements qu'elle fournit comme des indications nullement absolues et nécessaires, aux sens mathématique et philosophique purs.

Cette restriction faite, et elle était indispensable, voyons si néanmoins, pratiquement, cette méthode peut fournir des renseignements utiles.

Les applications de la méthode opsonique, au point de vue pratique, reconnaissent trois chefs : *diagnostic*, *pronostic*, *thérapeutique*.

Diagnostic opsonique

Qu'on relise les chapitres consacrés au diagnostic opsonique dans la fièvre typhoïde, dans la tuberculose, la méningite cérébro-spinale et l'on verra l'importance de la méthode opsonique au point de vue diagnostic : elle ne vaut ni la constatation d'un bacille de Koch pour la tuberculose, ni la culture du bacille d'Eberth dans le sang pour la typhoïde, ni la séro-réaction, mais faisant partie, au même titre que l'agglutination, d'une loi générale, régissant la constitution des humeurs, elle revêt une certaine importance et les résultats qu'elle peut fournir viennent renforcer ceux apportés déjà par la clinique et d'autres procédés de laboratoire.

Pronostic opsonique

Par la méthode opsonique, nous apprécions le pouvoir phagocytaire d'un sérum ; nous traduisons ainsi d'une manière sensible, *visible*, appréciable, la résistance que le malade oppose à l'infection ; cette lutte contre le germe pathogène ne nous

apparaît plus comme quelque chose de mystérieux, nous y assistons minute par minute, nous pouvons juger à l'aide de cette méthode, la résistance que le sujet oppose à l'infection ; nous constatons, *de visu* (et nos courbes ne sont pas autre chose que la traduction de cette lutte), les alternatives de victoires et de défaites, de l'organisme contre les bacilles ; c'est dire que nous possédons, semble-t-il, une mesure parfaite, de l'élément *pronostic ?*

S'il ne s'agissait dans cette lutte, pour l'organisme infecté, que de se débarrasser par la phagocytose des germes pathogènes, si les actions et réactions réciproques à apprécier ne portaient que sur le microbe, d'une part, et le phagocyte, d'autre part, les résultats fournis par cette méthode seraient parfaits ; si l'on constatait une phagocytose élective, active, parfaite, le pronostic serait bon, on pourrait prédire que l'organisme se débarrasserait à brève échéance des germes infectieux. Si l'on constatait au contraire une phagocytose modérée, hésitante, le pronostic serait réservé, plus sombre ; dans ce cas, c'est le microbe qui paraîtrait dominer l'organisme.

Mais la lutte de l'organisme contre l'infection, du fait même qu'elle est un phénomène vital est bien plus complexe : la phagocytose n'est que la traduction d'un des incidents de cette lutte.

Si le microbe est nocif par lui-même, il l'est encore plus par les toxines qu'il a sécrétées avant d'être phagocyté, et par celles qu'il déversera encore (endotoxines) une fois phagocyté.

Et même une fois phagocyté, il est capable, en un dernier effort, de détruire à son tour le polynucléaire qui l'avait englobé, ou le macrophage qui achevait la destruction des polynucléaires et des débris cellulaires.

C'est dire qu'à l'infection, traduisant l'ensemble des phénomènes dus à la présence seule des bacilles, se surajoute *l'intoxication*; cette intoxication est même le fait primordial, dominant.

Or, la méthode opsonique ne nous permet nullement d'apprécier la valeur de cette intoxication et cette remarque suffit à diminuer l'importance des renseignements que la méthode opsonique peut fournir en vue d'un pronostic.

Est-ce à dire qu'elle n'est d'aucune utilité ?

Non, certes au contraire, à la condition de ne lui demander que ce qu'elle peut donner, c'est-à-dire l'interprétation du *pouvoir phagocytaire du sérum* : or, il n'est pas *inutile* de savoir si un malade est en état de phagocytose active ou ralentie.

C'est à cela que doit se borner la contribution apportée par la méthode opsonique à l'édification du pronostic : en présence d'un malade dont le sérum a un pouvoir opsonique élevé on ne dira pas : « Voilà un malade qui va guérir, le pronostic est bon », mais on dira : « Voilà un malade dont la phagocytose se fait bien, qui se défend bien contre le germe infectieux, mais se défend-t-il aussi bien contre l'intoxication ? », c'est à la clinique de nous répondre, par l'étude des phénomènes réactionnels généraux, par l'examen de la température, du pouls, par l'intégrité dûment constatée des autres organes (rein, cœur, foie, poumons); si cette réponse tirée de l'examen clinique, est satisfaisante, superposée aux renseignements fournis par la méthode opsonique, elle permet un pronostic favorable, toute restriction faite, faut-il le répéter, pour des incidents impossibles à prévoir, qui peuvent survenir pendant l'évolution de la maladie et qui modifieront du tout au tout le pronostic.

Si, au contraire, l'examen clinique nous fait constater, malgré ce pouvoir phagocytaire élevé, ou peut-être (voir fièvre typhoïde) à cause de ce pouvoir phagocytaire élevé, des symptômes nets d'intoxication, il ne faudra pas se laisser influencer par le résultat opsonique. Dans ces cas, la phagocytose est négligeable, c'est l'intoxication qui est tout; aussi le pronostic ne tiendra-t-il nul compte dans ce cas des données opsoniques.

En résumé, cette méthode peut servir à établir un pronostic : mais encore ici, il faut savoir en interpréter les résultats, ne pas oublier, au moment de son expérimentation, qu'il s'agit d'un être vivant ; en d'autres termes, rapprocher les résultats obtenus de ceux fournis par l'examen clinique du malade, examen clinique qui doit passer avant toutes les manœuvres de laboratoire, dont le plus grand tort a justement été de faire négliger, par trop, la médecine clinique symptomatique, la plus rationnelle de toutes.

Valeur thérapeutique

Cette méthode opsonique enfin, trouve également son utilité dans l'interprétation des diverses thérapeutiques appliquées à une maladie.

Elle est, à l'heure actuelle, le seul moyen dont nous disposons pour apprécier les modifications subies par l'organisme, sous l'influence d'une médication quelconque, au moins en ce qui concerne, nous le répétons, le pouvoir phagocytaire.

Nous avons signalé, chemin faisant, l'importance de ces renseignements dans l'interprétation des résultats obtenus par la sérothérapie de la fièvre typhoïde, par les vaccinations contre la tuberculose, la staphylococcie, etc.

A l'aide de cette méthode, peut-être pourra-t-on doser d'une façon plus judicieuse certaines médications employées encore d'une manière empirique, non seulement certaines médications, mais presque toutes les médications ; quel est, en effet, notre guide en thérapeutique ? Qu'est-ce que la guérison, à quel moment cette guérison est-elle obtenue ? Est-elle solide, définitive ?

Nous ne pensons pas trouver dans la méthode opsonique une réponse parfaite à toutes ces questions, mais certainement souvent, des indications précieuses, des renseignements utiles.

D'abord ne pas nuire, *primum non nocere*, dit un vieil adage toujours exact : dans une grande majorité des cas, nous saurons que nous ne nuirons pas à l'organisme dans sa lutte contre les microbes, en mesurant les variations du pouvoir opsonique à la suite de notre médication.

Nous verrons ainsi à quel moment nous devons renforcer son action, intervenir activement, ou rester au contraire dans une sage réserve.

Cette méthode pourra rendre quelques services, il est permis au moins de le supposer, dans toutes les médications préventives. Quel est notre guide, au cours de thérapeutique préventive, quelle que soit l'épidémie incriminée, diphtérie, peste, etc. ? Nous n'en avons aucun, nous agissons empiriquement. Tous les individus reçoivent à peu près les mêmes doses de sérum préventif, de vaccin. L'on admet cependant, au nom de la clinique, certai-

nes prédispositions chez quelques sujets à contracter l'épidémie.

Pourquoi ne pas chercher à approfondir le problème et nous demander si ces prédispositions ne sont pas dues en somme à des variations de la teneur en opsonines des différents sérums ?

Dès lors, en cas d'épidémies, l'injection préventive serait précédée d'une recherche de ce pouvoir opsonique ; non pour éviter à certains individus l'injection qui doit les immuniser, mais pour répartir différemment les doses : très peu à celui-ci dont le pouvoir phagocytaire est très actif, une dose plus élevée au contraire à celui-là, dont le pouvoir phagocytaire est ralenti.

En cas de réapparition de cette même épidémie ou pour un médecin qui doit retourner dans un même foyer épidémique, nous voyons encore quelques applications de la méthode opsonique.

Recourir systématiquement à une nouvelle injection c'était parfait tant que l'on ignorait les phénomènes d'anaphylaxie ; on hésite aujourd'hui, et très légitimement, surtout à titre préventif, à injecter à nouveau un sujet, qui quelque temps auparavant a déjà reçu une dose de sérum, ne pourrait-on pas par la méthode opsonique surveiller son pouvoir opsonique, et si ce pouvoir reste élevé, électif, lui éviter les dangers d'une nouvelle injection ?

Enfin, mais nous nous laissons entraîner un peu dans le domaine des hypothèses, quel est notre critérium à l'heure actuelle, dans la thérapeutique de la syphilis ?

Pouvons-nous dire à un syphilitique, parce qu'il n'a pas eu d'accidents depuis un an : « Vous voilà à l'abri de tout ennui, vous pouvez vous marier » quand quelques jours après ce conseil peut-être, des accidents vont éclater en coup de foudre ?

Quel guide avons-nous pour diriger le traitement mercuriel ? des règles établies par l'expérience sagace de bons cliniciens, mais qui peuvent à l'occasion de tel ou tel malade se trouver en défaut. Ne peut-on prévoir un avenir où cette estimation de l'énergie défensive d'un individu contre le tréponème pourra être appréciée d'une manière plus exacte, par la méthode opsonique ? où ces indications du traitement, spéciales à chaque malade, seront susceptibles d'être interprétées, d'une manière analogue ?

En terminant, nous voulons à l'avance répondre à l'objection que l'on ne manquera pas de nous adresser :

Imbu de vos recherches sur les opsonines, nous dira-t-on, vous en avez exagéré l'importance théorique et pratique ; il s'en faut que dans la réalité la méthode opsonique donne d'aussi bons résultats que vous le prétendez.

Toutes nos recherches ont été faites sans esprit de parti pris, sans conviction absolue faite d'avance ; tous nos résultats ont été exposés, avec la même méthode, en indiquant, chaque fois, les avantages, les inconvénients, les incertitudes même ; nous avons, en cours de route, multiplié les réserves, les « peut-être » ; c'est dire suffisamment que nous ne faisons pas de la méthode opsonique la clef de tous les mystères, que nous ne voyons pas dans les opsonines le résumé de toute l'histoire de l'immunité.

Simplement, nous avons essayé d'étudier ce qu'il fallait entendre par opsonines, ce qu'elles étaient au fond dans leur nature, leur origine, leur spécificité, quel rôle elles jouaient au cours des maladies, spécialement dans la fièvre typhoïde, et quelle valeur pouvait être attribuée à la méthode opsonique, au triple point de vue; 1° diagnostic; 2° pronostic; 3° thérapeutique.

CONCLUSIONS

Nous sommes maintenant en mesure de condenser en quelques paragraphes, les conclusions générales qui nous paraissent se dégager de cette étude, quitte à renvoyer le lecteur à chacun des chapitres successivement envisagés pour la compréhension plus exacte et le détail des faits signalés.

I. — Les opsonines sont des substances solubles, contenues dans le sérum normal et les immunsérums, dont le rôle est de *favoriser* la phagocytose, spécialement en préparant, en *mordançant* les bacilles.

II. — La recherche de ces opsonines dans un sérum constitue la méthode opsonique (voir technique) : le résultat qu'elle fournit permet *d'apprécier le pouvoir opsonique* d'un sérum.

L'indice opsonique est le rapport entre le pouvoir d'englober des bacilles dont jouissent les leucocytes polynucléaires actionnés par un sérum normal et le pouvoir dont ces mêmes leucocytes sont revêtus quand ils reçoivent l'impulsion d'un sérum provenant d'individus en état d'infection.

III. — De nombreux facteurs peuvent influencer *l'opsonisation*, tenant :

1° Aux matériaux mêmes servant à l'expérience :

a) Nature et qualité des leucocytes ;

b) Qualité et quantité des bacilles employés ;

2° A certaines propriétés du sérum :

Alcalinité, acidité ;

Présence d'agglutinines, de bactériolysines, etc.

3° A certaines conditions de l'expérience :

Froid, chaleur, durée, etc.

4° A certaines substances :

NaCl, NaFl, sels de calcium, etc.

IV. — *La quantité d'opsonines* contenue dans le sérum est susceptible de varier :

1° Avec les espèces animales ;

2° Avec les individus d'une même espèce ;

3° Chez un même individu, suivant certaines conditions physiologiques :

Le jeûne, la digestion, la grossesse, etc.

La quantité d'opsonine contenue dans le sérum est moindre chez l'enfant que chez l'adulte, plus grande au contraire chez le nourrisson (en état continu de digestion). Elle est modifiée également dans certains états constitutionnels, les états thyroïdiens par exemple ; augmentée ou diminuée suivant qu'il y a hyper ou hypothyroïdie (Marbé) ; elle subit enfin des variations intéressantes au cours des maladies infectieuses.

V. — Nature. — Les opsonines ne sont pas *dialysables ;* elles paraissent associées aux albumines du sérum comme les anticorps, de préférence aux globulines. Elles agissent en impressionnant *directement* le bacille et non le leucocyte ; elles *préparent* le bacille à être facilement phagocyté (substances *bactériotropiques*). Elles sont des adjuvants précieux pour la phagocytose.

Il faut distinguer :

1° Les opsonines des sérums *normaux* qui se rapprocheraient beaucoup des *compléments* (cytase, alexine) sans toutefois que l'on soit en droit d'identifier absolument ces deux principes ;

2° Les opsonines des *immunsérums*, qui se rapprocheraient des ambocepteurs (fixateurs, sensibilisatrices) sans toutefois non plus qu'il s'agisse d'une identification absolue.

D'une manière générale les opsonines sont *thermolabiles*, (à 56 degrés) ; on doit néanmoins admettre l'existence d'une faible partie constituante *thermostabile*, au moins dans les immunsérums.

L'action réciproque des autres propriétés des sérums (*agglutinines*, pouvoir *bactéricide*, *aggressines*, *précipitines*, *hémolysines*) ne s'exerce pas sur les opsonines d'une manière assez évidente et absolue, pour que l'on soit en droit de leur denier toute individualité.

Les *agglutinines* seules ont un rôle assez incontestable, il ne s'agit pas néanmoins d'une tutelle étroite et *permanente*.

En résumé, les opsonines ne sont identiques absolument, ni au complément, ni à la sensibilisatrice (Levaditi), ni absolument indé-

pendantes toutefois, des autres principes du sérum (Wright, Bulloch, Sauerbeck) : elles présentent des analogies et des dissemblances avec les unes et les autres de ces diverses propriétés.

Elles sont, à la fois, mélange d'ambocepteurs et de compléments, en partie thermostabiles, et surtout thermolabiles, et non un principe parfaitement isolable du sérum, d'autant que toutes ces propriétés ne sont peut-être, en dernière analyse qu'une traduction de *l'état physique* instable des *colloïdes* constitutifs du sérum sanguin. (V. Henri.)

VI. — Origine. — L'origine des opsonines est assez obscure. Il est certain que le système hématopoïétique doit contribuer pour une large part à les produire. Mais de nos recherches il résulte qu'il est impossible de saisir sur le fait cette production directe, que tout autorise à soupçonner, mais que rien ne vient affirmer.

Nous croyons que les opsonines préexistent dans le plasma circulant : elles sont une propriété spéciale du sang ; elles s'y trouvent, non pas sous la forme d'opsonines, mais en majeure partie à l'état d'*opsinogènes*, de *préopsonines*.

La transformation en opsonines définitives, *actives*, ne se fait qu'au fur et à mesure des besoins, à l'aide sans doute de substances, de principes provenant des organes hématopoïétiques, du *foie*, du *corps thyroïde*, etc., comme nous voyons la sécrétine venir influencer le pouvoir du suc pancréatique et tel organe retentir sur le produit de sécrétion de tel autre organe.

VII. — Spécificité. — Suivant les besoins, l'organisme répond à l'invasion microbienne par la production de telle ou telle opsonine, mais la spécificité de chacune de ces opsonines est loin d'être absolue, étroite (Wright, Bulloch).

Ayant fait appel, pour arriver à un résultat probant, à l'expérimentation et à des constatations d'ordre clinique, nous pensons qu'il s'agit d'une spécificité *relative*, mais suffisante pour permettre l'application de la méthode aux faits cliniques.

VIII. — Méthode opsonique. — A. — *Valeur de la méthode opsonique en elle-même.* — Cette méthode ne peut nous donner une certitude, elle ne peut fournir que des à peu près, des valeurs comparatives : comme toute méthode d'interprétation de phéno-

mènes biologiques, elle est soumise à trop d'influences complexes pour pouvoir nous donner des résultats rigoureusement exacts. Telle qu'elle est cependant, elle trouve en clinique de nombreuses applications.

B. — *Valeur diagnostique.* — (Se reporter à la discussion sur le diagnostic opsonique de la fièvre typhoïde et de la tuberculose).

Valeur pronostique. — La méthode opsonique nous permet d'apprécier seulement l'activité phagocytaire d'un sérum : or cette activité ne résume pas toute la lutte de l'organisme ; elle laisse de côté d'autres particularités (phénomènes d'intoxication, pouvoir bactéricide, etc.). Quoi qu'il en soit, elle seconde la clinique dans l'interprétation des faits et permet au moins d'apprécier l'état de l'un des processus de défense de l'organisme (l'énergie phagocytaire).

Valeur thérapeutique. — Cette méthode a servi à Wright pour établir sa thérapeutique des vaccins microbiens : d'une manière générale, elle est un moyen de contrôle du bénéfice ou de l'insuccès d'une médication au cours d'une infection.

Nous avons montré les services qu'elle rend en permettant d'interpréter certains faits, concernant la *sérothérapie antityphique*, qui nous est apparue comme provoquant une opsonisation spécifique.

On peut envisager son rôle en médecine préventive, au cours d'épidémies par exemple, servant à apprécier, par le pouvoir opsonique différent des individus, les doses variables de sérum à injecter d une manière préventive, et à éviter, dans certains cas, de nouvelles injections, exposant aux phénomènes d'anaphylaxie.

On peut enfin, si l'on réalise son application à la syphilis, lui attribuer un moyen de contrôle de tout premier ordre dans la manière de diriger le traitement mercuriel et dans l'interprétation de l'état d'immunité relative ou d'imminence d'accidents de l'organisme infecté.

Quelques applications de la méthode opsonique à la clinique

I. — Opsonines et fièvre typhoide. — La valeur de l'indice pour le bacille d'Eberth au début de la fièvre typhoïde est en général supérieur à 1,70.

De la valeur de cet indice (supérieur à 1, 70) on est en droit de tirer des indications en vue du *diagnostic opsonique*.

Dans les fièvres typhoïdes traitées seulement par les bains froids, l'indice opsonique s'élève peu à peu pendant la période d'état, atteignant 3,50 ; 4 en moyenne. Puis la valeur de cet indice s'abaisse un peu, subit quelques oscillations au cours du stade amphibole, puis s'élève à nouveau, en général au moment de la convalescence. Dans les *formes bénignes*, l'élévation de l'indice est moins rapide et atteint des chiffres assez élevés, à la convalescence.

Dans les *formes prolongées*, l'indice a au contraire une valeur basse.

Les *enfants* ont, d'une manière générale, un sérum moins riche en opsonines que les adultes.

Dans les fièvres typhoïdes traitées par le sérum antityphique de M. le professeur Chantemesse, on constate dans les quarante-huit heures qui suivent l'injection une augmentation rapide et considérable de la valeur de l'indice opsonique. Cette élévation dure quatre à six jours, puis la courbe générale se rapproche de la courbe précédente (fièvre typhoïde non traitée par le sérum). *La sérothérapie antityphique constitue donc une véritable opsonisation antityphoide.* Les *reprises*, les *rechutes* s'accompagnent d'une chute de la valeur de l'indice. Cette chute, *phase négative*, traduit une véritable réinoculation de l'organisme : elle correspond à ce qu'expérimentalement l'on obtient en faisant en série de nouvelles inoculations de bacilles aux animaux en expérience.

La perforation intestinale s'accompagne d'une *chute considérable*, rapide, au-dessous de l'unité même, de la valeur de l'indice opsonique.

L'*hémorragie intestinale* ne paraît nullement influencer la quantité d'opsonines.

Les opsonines des dothiénentériques ne sont pas étroitement spécifiques, ni absolument indépendantes des autres propriétés du sérum, agglutinines spécialement, pouvoir bactéricide, précipitines, aggressines, antiphagines etc., sans que l'on soit cependant en droit d'en subordonner l'existence et l'action à la présence de ces autres principes.

Chez un individu atteint antérieurement de fièvre typhoïde, elles sont susceptibles de réapparaître à l'occasion d'une infection d'une autre nature.

La facilité avec laquelle l'organisme immunisé fabrique des opsonines relativement spécifiques pour le bacille d'Eberth, est une des raisons de *l'immunité* persistante de l'organisme pour l'infection typhique.

II. — Opsonines au cours d'autres maladies infectieuses. — Les variations des opsonines, sous l'influence de la tuberculose, de la staphylococcie, de la diphtérie, la sporotrichose, la méningite cérébro-spinale, le tick-fever, le charbon, la pneumonie, l'érysipèle, etc., ont été également signalées dans la dernière partie de ce travail.

Transcrire ici, à propos de chacune de ces affections, les résultats obtenus par les différents auteurs, constituerait une répétition et une énumération fastidieuses. Nous préférons renvoyer à ce chapitre le lecteur que cette question intéressera.

Vu : Le Président de la thèse
CHANTEMESSE

Vu : le Doyen :
LANDOUZY

Vu et permis d'imprimer
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris
L. LIARD

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE RELATIVE AUX PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES DU SÉRUM

Les indications bibliographiques qui suivent ne comportent que celles intéressant *directement* les opsonines. Pour toutes celles qui se rapportent aux autres propriétés spéciales du sérum, nous nous contentons d'indiquer les travaux suivants :

Le Sourd. — Recherches expérimentales et cliniques sur la présence d'une substance sensibilisatrice spécifique dans le sérum des typhiques. Th. de doct. de Paris, 1902.

Balthazard. — Toxine et antitoxine typhiques. Th. de doct. de Paris, 1903.

Gaudeau. — Le pouvoir hémolytique du sérum sanguin et la résistance globulaire. Th. de Paris, 1906.

Hallion.. — Presse méd. 1908, n° 34, p. 265. Physiologie appliquée : les anticorps dans la pratique expérimentale. La déviation du complément.

Iscovesco. — Les lipoïdes. Juillet 1908. Presse méd.

Stodel. — Les colloïdes. Th. de Paris, 1908.

BIBLIOGRAPHIE RELATIVE AUX OPSONINES

Achard et Feuillié. — Résistance et activité des leucocytes dans les épanchements pathologiques. Soc. biol., 11 janvier 1908, p. 17, 18 janvier 1908, p. 74 et 8 juillet 1908.

Allen. — The opsonic method of treatment. London, 1907.

Aspelin (E.). — Nagra ord om de s. K. opsoninema i serum deras forhällande hos friska och sjuka, sässkildt hos tuberculösa. Allm. sven Läkartidn, Stockholm, 1905, II, 385-394.

Auché. — Pouvoir opsonique du sérum antidysentérique de Waillard et Dopter à l'égard des bacilles dysentériques du type Flexner. Soc. biol., 1908, p. 831.

Baldwin. — The mechanism of resistance to tuberculosis. Proceed of the Path. Soc. of Philadelphia, IX, 163-178, 1907.

Banks. — The variations in scarlet fever of the opsonic power of streptococci. Journ. Path. and Bact., 1908.

Barratt. — Roy. Soc. Proc., 1905, LXXVI, 524.

Bosanquet and Ronald, French (E.). — The influence of antituberculous serum on the opsonic index. British Med. Journ., 13 avril 1907.

Beattie de Sheffield. — Lancet, 1907.

Becher. — Zeitschrift f. Hyg., 1907, vol. LVI, p. 33.

Besredka. — Ann. Inst. Pasteur, 1902, XVIII, 363.

Bine und Lissner (Henry). — Die Technik der Opsoninbestimmung und ihre Anwendung bei Lugentuberkulose. Munch. med. Woch, nº 51, 1907.

Bube et Medalla. — Applications pratiques de la thérapeutique opsonique. Bost. Med. Journal, vol. CLVIII, nº 29. Janvier 1908.

Beddard. — The opsonic power of blood. Guy's Hosp. Gaz. London, 1905, XIX, 420-423. Also : West Lond. M. J. Lond., 1906, II, 13-20.

Bossan. — Opsonines et index opsonique comme moyen de contrôle de l'effet produit par certaines médications. Gaz. des Hop., 1907, p. 111.

Bradshaw (T. R.) et Glynn (E. E.). — The significance of the opsonic power of the blood and the value of estimations of the opsonic index in the diagnosis and treatment of tubercular and other infections ; remarks by G. A. Crace Calvert. Liverpool. M. Ch. J., 1906, XXVI, 115-136.

Bolduan. — The value of the opsonic index as a guide in the treatment of bacterial infection. Long Island. Med. Journ. t. I, 1907.

Brooke. — A note on the opsonic index. Dublin. J. M. Sc. 1906, CXX II, 180-188.

Boelke. — Deutsch. Med. Woch., nº 37. 1907, p. 1487.

Bulloch et Atkin. — Experiences on the nature of the opsonic action of the blood serum. Proceed of the Royal Soc., 1905, vol LXXIV, p. 379.

Blasi. — Inst. Hyg. Univ., Rome. Sulla Natura delle aggressine sul loro comportamento rispetto alle opsonine. Ann. Ig. Sper, t. XVIII, f. 1, 1908, p. 79-91.

Briscoe (Ch.). — Lancet 1907. Source des opsonines et caractères des cellules intéressées dans la phagocytose.

Breton et G. Petit. — Propriétés cytasiques ou opsonisantes du

sérum dans la fièvre typhoïde. C. R. Soc. biol., p. 941, 1er semestre.

Briscoe et Williams. — The treatment of pulmonary affections by the inoculation of vaccines controlled by the opsonic index. The Practitioner, t. LXXX, nº 5, mai 1908, p. 671-692.

Bulloch (W.). — Inquirity into the opsonic content of the blood serum in healthy individuals and in patients affected by lupus Tr. Path. Soc. Lond 1905, LVI, 334-344.

Bulloch. — The treatment of tuberculosis by tuberculin. Transactions of the royal med. chir. Soc., vol. LXXXIX, 1906, p. 69-84.

Bulloch. — On the principles underlying the treatment of bacterial disease by the inoculation of corresponding vaccines. Practitioner, novembre 1905.

Bulloch et Western. — The specificity of the opsonic substances in the blood serum. Proc. Roy. Soc. Lond. 1905-1906, s. B. LXXVII, 531-536.

Chantemesse. — Congrès de Berlin, 23 septembre 1907, et Bulletin médical 25 septembre 1907. Sérothérapie antityphique et opsonisation antityphoïde.

Charteris Francis de Glascow. — Lancet, 1907.

Chapin et Cowie. — The separation of opsonic ambocepteur and complement in the cold. Journ. of med. Res., t. XVII, f. 2, p. 213-219.

Clarke (H.). — Effet de la tuberculine sur l'index général de la tuberculose chez les tuberculeux. Lancet 20 juin 1907.

Clark (P.) et Simonds (J.). — A study of typhoïd opsonin. Journ infect diseases VI-13 1908.

Cowie et Chapin (Ann. Arbor Michigan). — On the reactivation of. heated normal human opsonic serum with fresh diluted serum. Journ. of med. Res t. XVII, f. 1, octobre 1907, p. 57-76.

— Experiments in favor of the amboceptor complement structure of the opsonin normal human serum for the staphylococus albus. Journ. of med. Res. t. XVII, f. 1, p. 95-119.

Crafton. — Journ. of Hyg., 5 octobre 1905.

Crace Calvert. — Brit. med. Journ, juillet 1906.

Davids. — Journ. inf. diseases, 1905.

Dean (G.). — An experimental enquiry into the nature of the substance in serum which influences phagocytosis. Proceed of the Royal. Soc. London, 1905, vol. LXXVI, p. 506.

— . The Brit. Med. Assoc. Path., 7 sept. 1907.

— Centralbl. f. Back. Ref. 1905, XXXVII, 349-449.

Dodds. — Brit. Med. Journ., 1906.

Doyen. — Diagnostic du cancer par une réaction spécifique avec le micrococcus neoformans. Soc. biol., 9 mai 1908, p. 816.

Eisler et Sohma. — Recherches sur le contenu en opsonines du sang des mères saines, immunisées, et de nouveau-nés. Münch. Klinich. Woch., mai 1908.

Ellet. — A note on the effect of bodily exertion on the opsonic index of healthy. pers. Brit. Med. J. London, 1906, ii. 131.

Farland (M.) (Philadelphie). — The Nephelometer. Journ. Am. Med. assoc. t. XLIV, f. 14, p. 1176-1178 (1907).

Farland et L'Engle (Philadelphie). — The specific nature of opsonins. Journ. Am. Med. Ass., t. LIX, f. 14, p. 1178-1180.

— Observations upon the phagocytic povver of the blood of supposedly normal human beings. Soc. des biologistes Americains de Michigan, déc. 1905.

Fernet. — Brit. Journ. of Dermat., 1906.

Fornet. — Sur le séro-diagnostic, les précipitines et les opsonines. Münch. Med. Woch. 28 janv. 1908.

Flexner. — Journ. of Exp. Med., 14 mars 1907.

Flemming. — Some observations on the opsonic index with special reference to the accuracy of the method and to some of the other sources of error. The Practitioner, nº 5, t. LXXX, mai 1908, p. 607-634.

Frederick. — Opsonins and aggressines. Albany M. Ann., 1906, XXVII, 730-738. Also Canad. Pract. and Rev. Toronto, 1906, XXXI, 320-327.

French. — On opsonic factors : their estimation and use in therapeutics, with some illustrated cases. Practitioner, London. 1906, LXXVII, 64-83.

Fyshe. — Some notes on opsonins. Montreal M. J., 1906, XXXV, 662-666.

Gay. — La déviation de l'alexine dans l'hémolyse. Ann. de l'Institut Pasteur, 1905, et id. 1906, p. 467 avec Bordet. Relations des sensibilisatrices et de l'alexine.

Gray. — Lancet, avril 1906.

Gruber et Futaki. — Münch. med., Woch, 1906, nº 6 p. 249. Centralblatt f. Bacteriol. (Ref), 1906, vol. XXXVIII, p. 11.

Guillain, Boidin et Fiessinger. — Sur quelques propriétés du sérum d'un malade convalescent d'œdème charbonneux de la face. C. R. Soc. Biol. 12 et 19 oct. 1907, p. 308 et 349.

Hamburger et Hekma.— Quantitative Studien über phagocytose. Einfluss von Wasserentziekung. Bioch. Zeitsch. vol VII, fasc. 1 et 2, p. 102-116.

Hahn. — Deutsch. Arch. f. Klin. Med., 1906.

Hektoen et Ruediger. — The Journal of infections Diseases, vol. II, n° 1, p. 128, 1905. Studies in phagocytosis.

Hektoen. — Phagocytosis of red corpuscles. Journ. inf. diseases, III, 721-730, 1906. (Il existerait dans le sérum humain des opsonines agissant sur les globules rouges de l'homme, ce qui expliquerait la phagocytose des globules rouges dans certaines conditions.

— Phagocytosis and opsonins J. Am. M. Ass. Chicago, 1906, XLVI, 1407-1416 : Also Reprint. Are opsonins distinct from other antibodies ? J. inf. dis. Chicago, 1906, III, 433-440.

— Proc. of. the New York Path. Soc., 1906, vol. VI.

— Centralbl. f. Bakteriol., 20 Aug., 1907, p. 456-463.

Houston et Rankin. — Lancet, 1907.

Hume (J.). — Opsonins and the opsonic index. Med. Brief. Saint-Louis, 1906, XXXIV, 689-693.

Hume (W.-E). — The opsonic value of the blood serum. Univ. Durham. Coll. Med. Gaz. Newcastle, 1905-1906, VI, 123-129.

Inmann (A. C.). — On opsonins and the principles of therapeutic inoculation by bacterial vaccines. Treament Lond., 1906-1907, XI 61-168.

— *Science* in medicine ; being an account of some recent advances in the treatment of disease following on the discovery of opsonins. — Sc. Progr. Lond., 1906-1907 I 238-258.

— The value of the opsonic index in the treatment of pulmonary tuberculosis. The Practitioner, t. LXXX, mai 1908, p. 647-660.

Ipiniburu. — Las opsoninas y la fagocitosis. Gac. med. d. norte. Bilbao, 1906, XII 355-358.

Jousset. — La méthode opsonique de Wright. Ses applications au pronostic et au traitement de la tuberculose. Rapport à la Société d'études scientifiques sur la tuberculose in Bull. Médical, 15 mai et 18 mai 1907, p. 425 et p. 438.

— Traduction et résumé : le traitement de la tuberculose par les inoculations. Presse méd., 1905, n° 13.

Kurt Meyer. — Uber die phagocgtose befödernden substanzen des Blutserums. Berl. Klin. Woch., 18 mai 1908.

Kæmmerer. — Münch. Med. Woch. n° 39, 1907.

Keith. — Soc. Proc., 1906, LXXVII, 573.

Kœssler et Neumann. — Opsonines et grossesse : Wiener klinisch. Woch., nº 12, 19 mars 1908.

Lapicque. — « Opsonic index » indice opsonique. Soc. biol., 9 mai 1908, p. 828.

Lawson et Miller. — Lancet, 1907 (sur l'élimination des opsonines par les organes).

Lawson et Stewart. — A study of some points in relation to the administration of tuberculine T. R. controled by observation of the opsonic index in pulmonary tuberculosis. Transact. of the Roy. Med. Ch. Soc., 1906, vol. LXXXIX, p. 45-68.

Levaditi et Inmann. — Contribution à l'étude des opsonines. Propriétés opsonisantes des sérums normaux. Bull. de Soc. Biol., 1907, p. 683 et p. 725.

— Contribution à l'étude des opsonines. Opsonines des sérums spécifiques. Soc. de biologie, 1907, p. 817.

— Mécanisme de l'opsonisation. Bull. soc. de biol., 1907, p. 869.

Levaditi et Kœssler. — Contribution à l'étude des opsonines normales. Anticomplément et antiopsonine. Bull. Soc. Biol., 1907, p. 685.

Levaditi et J. Roché. — Les opsonines et le mécanisme de la crise dans la Tick-fever. Bull. Soc. Biol., 1907, p. 619.

Levaditi. — Les opsonines. Presse médicale, 31 août 1907, p. 553.

— Les opsonines et le traitement des maladies infectieuses. Presse médicale, 7 sept. 1907, nº 72, p. 569.

Levaditi et Mutermilch. — Pouvoir immunisant de l'antigène cholérique soluble dans l'alcool. Soc. Biol., 27 juin 1908, p. 1151.

Leischmann. — Brit. Med. Journ, 1902, janvier, p. 72.

Löhlein. — Observation sur la phagocytose in vitro. 1er mémoire. Ann. de l'Inst. Pasteur, octobre 1905, p. 646 et 2e mémoire, novembre 1906, p. 939.

— Centralblatt für Bactériol (Ref.), 1906, vol. XXXVIII, p. 32.

Löwenstein. — Zeitsch. f. Hyg., Bd. 55, 1906.

Marie (A.). — Séro-agglutination et opsonisation appliquée au contrôle de la spécificité du bacillus paralyticans de F. Robertson. C. R. Soc. Biol., 1907, p. 279, 2e semestre.

Marbé. — 1º Les opsonines dans les états thyroïdiens ; opsonines

des animaux hyperthyroïdés. Soc. Biol., 13 juin 1908, p. 1058.

— Opsonines des animaux éthyroïdés. Soc. Biol., 20 juin 1908, p. 1113 et Soc. Biol., décembre 1908.

Meakin. — Opsonines St. Barth. Hosp. J. Lond., 1905-1906, XIII, 57.

Meakin et Wheeler. — Brit. Med. Journ., 1905, novembre, p. 1396.

La Méthode opsonique au point de vue du pronostic et du traitement de la tuberculose. Semaine médicale, 1906, XXVI, 122.

Method of determining the opsonic index, J. A. M., Ass. Chicago, 1906, XLVI, 1783.

Metchnikoff. — Article Phagocytose dans Kolle et Wassermann Handbuch der path. Microorg., Iéna, 1905, chez G. Fischer.

Milhit. — Congrès de Berlin, 23 septembre 1907 en collaboration avec M. Chantemesse.

— Gaz. des Hôpitaux, juin 1908. Passage des opsonines de la mère au fœtus.

— Juillet 1908. Progrès médical. Influence de quelques facteurs sur le mécanisme de l'opsonisation.

— Soc. Méd. des hôpitaux. Les opsonines dans la sporotrichose. Juillet 3, 1908.

— Spécificité des opsonines. Diagnostic opsonique de la fièvre typhoïde. Arch. de Méd. expérimentale, n° 4, juillet 1908.

Moss. — Studies on opsonins. Johns Hopkins Hosp. Bull., t. XVIII, f. 1907, p. 195.

Muir et Martin. — Brit. Med. Journal, 22 décembre 1907, p. 1783. On the combining properties of opsonins of normal serum.

Morton. — Duration of phagocytic power of human leucocytes and of opsonic power of human serum outride the body. Trans, of the Chicago Path. Soc. Avril 1905.

Nathan-Larrier. — Diabète et opsonines. Soc. biol. déc. 1908.

Neufeld — Deutsche Medizin Woch. 1904, p. 1929. Ueber die Grundlagen der Wrightschen Opsonin Theorie. Berl. Klin. Wochen., 25 mai 1908, p. 993-996.

Neufeld et Huhne. — Arb. aus dem kaiserl Gesundheitsamte, 1907, vol. XXV, fasc. 1.

Neufeld et Rimpau. — Deutsche Med. Woch., 1904, vol. XXX n° 40, p. 1458.

— Zeitschrif f. hyg., 1905, vol. LI, p. 283.

Neufeld et Töpfer. — Centralblatt f. Bakteriol (orig.), vol. XXXVIII, p. 456.

Neumann (R. O.). — Untersuchungen über opsonine und phagocytose. Centralblat. Bact. 46-57, 1907.

Noguchi. — On the influence of the reaction and of dessication upon opsonins. Reprint. from Journ. of Exp. Medic., vol. IX, nº 4, 1907.

— On the chemical reactivation and regeneration of complement. Read at the annual meeting of the Society of American Bacteriologists, Dec. 28, 1906.

Opie (L.). — Opsonins of inflammatory exudates. Journ. of Exp. Med., t. IX, juillet 1907, p. 455, et 21 sept., p. 457 et 515.

Park et Biggs (New-York). — The opsonic index as a guide to regulate the use of vaccines in the treatment of disease. Journ. of Med. Res., t. XVIII, f. 1, octobre 1907, p. 77-89.

Potter, Ditman et Bradley. — The opsonic index in medicine. J. Am. M. Ass. Chicago, 1906, t. XLVII, 1722-1725.

Potter et Krumwiede. — Some observations upon opsonins in pneumonia and in four streptococcus infections. Journ. of inf. dis., t. IV, novembre 1907, p. 595.

Potter (New-York). — Further observations on opsonins in normal and pathologic sera. Journ. Am. Med. Ass., t. XLIX, f. 22, p. 1815-1825.

Rankin et Martin (A.). — Reprinted from the proceedings of the Society for Exp. biology and Med., 1907, p. 81-83.

— Observations on the effects of-fasting upon the opsonic power of the blood towards staphylococus aureus.

Ricklin (E.). — La théorie de Wright basée sur la notion des opsonines et de l'index opsonique. Applications cliniques. Revue internationale de Clinique et de Thérapeutique, 1908.

Rodet et Lagriffoul. — Soc. Biol., 2 novembre 1907.

Roger. — Les réactions défensives de l'organisme contre les infections. Presse médicale, 9 novembre 1907, p. 741.

Romme. — Les opsonines et la phagocytose. Presse médicale, Paris, 1906, 360.

Ross. — An adress on the opsonic theory and its practical application to medicine and surgery. Brit. med. J., London, 1906, II, 16-19.

— Opsonins and bacterial vaccines. Ibid, 1906, II, 1452-1454.

Ratch and Floyd. — Journ. Amer. med. Ass., 24 aug. 1907.

Rosenow. — Human pneumococcal opsonin and the anti-opsonic

subt in virulent pneumococci. Transact. of Chicago, Path. Soc., VII, 55-61, 1907.

Ruth. — The opsonic index in diphteria. Journ. of infect diseases, V, 14-22, 1908.

Sachs. — Deutsch med. Woch, 1908, nº 18, p. 705.

Saathoff. — Emploi pratique de l'index opsonique. Münch. med. Woch, nº 15, avril 1908.

Sauerbeck. — Neue tatrachen und theorien in der immunitætsforsch. die opsonin theorie. Wiesbaden, 1907, chez Bergmann.

— Ergebnisse der allg. path. herausgegeben von O. Lubarsch und R. Ostertag, 1907, t. XI, p. 716.

Simonds. — The effect of the injection of killed streptococci on the streptococo opsonic index of normal rabbits.

Simon et Lamar. — A method of estimating the opsonic content of blood and other fluids. Johns Hopkins. Hosp. Bull. Balt., 1906, XVII, 27.

Simon. — A further contribution to the knowledge of the opsonins.

Simon Lamar, Bispham. — A contribution to the study of the opsonins. Reprinted from the Journal of Exp. Med. vol. VIII, décembre 1906.

Simon et Hans. — Réunion biologique de Nancy, avril 1908, p. 743.

Sleeswijk. — Contribution à l'étude des opsonines. Ann. Inst. Past. t. XXI, 25 décembre 1907, p. 983-990.

— Ueber den Bau der opsonine. Centralblatt. f. Bakt, t. XLVI, 1908, p. 513.

Smith. — The opsonic index. Ophtalmoscope Lond. 1906, IV, 513.

— Proce. Lennean Soc. New South Wales 1905, II, 269. The probable identity of the opsonins with the normal agglutinins.

Strubell. — Munch. Med. Woch, nº 44, 1907, p. 2172.

— Sur la technique opsonique. Deutsch. Med. Woch., nº 19, 7 mai 1908.

Sutcliffe. — Lancet, 10 août 1907 (Sur un cas de septicémie à streptocoques.)

Schœtmuller et Much. — Les opsonines comme moyen de différenciation et d'identification des variétés de microbes pathogènes. Munch. Medic. Woch., nº 8, 25 février 1908.

Taylor. — Lancet, 1909 (méningite cérébro-spinale).

Tchistovitch et Iourevitch. — Sur les opsonines et antiphagines dans l'infection pneumococcique. Soc. Biol., 20 juin 1908,

p. 1095, et Ann. de l'Institut. Pasteur, 25 juillet 1908.

Thomas. — Variability and unreliability in the determination of the opsonic index. Journ. Am. Med. Ass., t XLIX f. 15, p. 1249 et 1254.

Tod et Western. — The treatment of lupus and tuberculous disease of the car, nose and throat by inoculation. The Practitioner, mai 1908, p. 703-713.

Turton and Roy appleton. — The relative opsonic power of the mothers blood serum and milk. Brit. Med. Journal., 13 avril 1907 p. 865.

Urwick. — Brit. Med. Journal, 1905, juillet, p. 172.

Veitch. — Journ. of Path. and Bact., janvier 1908.

Walker. — The tuberculin (T. R.) treatment of tuberculosis of the genito urinary organs. The practitioner, mai 1908, p. 723-736.

Wakelin (J. O. Barrat). — Die quantitative bestimmung der erythrocyten opsonine. Centralbl. Bact., 1907, p. 838.

Wadoux. — Influence comparée du sérum normal et du sérum antipesteux sur la phagocytose du bacille de la peste. C. R. Soc. Biol., p. 477, 1907.

Warrington. — Lancet, 1907.

Weinstein. — Ueber die Grundlagen und Anwendung der Wright schen Opsonintherapie. Berl. Klin. Woch., 1906, XLIII, 1007-1011.

Western. — The treatment of bacterial infections by vaccines. Lancet, t. CLXXIII, nov., 1907, p. 1217, 1375 et 1449.

Wells. — Observations on the opsonic index in infants. The practitioner, t. LXXX, f. 5, mai 1908, p. 635-638.

White. — Dublin Journ. of med. sc., avril 1906. Note on the experimental error in the method of determining the tuberculo opsonic index of the blood. The Practitioner, f. 5, mai 1908, p. 639-640.

Whitfield. — On the treatment of skin diseases by inoculation after the opsonin method. The Practitioner, t. LXXX, p. 697-702.

Wright. — Notes on the treatment of furunculosis, sycosis and acne by the inoculation of a staphylococcus vaccine and generally on the treatment of localized bacterial invasions by therapeutical inoculations of the corresponding bacterial vaccines Lancet. London. 1902, vol. I, p. 874-884.

Wright and Douglas. — On the action exerted upon the staphylococcus pyogenes by human blood and on the elaboration of

protective elements in the human organism in response to inoculations of a staphylococcus vaccine. Proceedings of the royal Society, vol. LXXIV, p. 147, 1904.

Wright et Douglas. — An experimental investigation of the role of the blood fluids in connection with phagocytosis. Proc. Roy. Soc. Lond., 1903-1904. vol. LXXII, p. 357-370.

— Further observations on the role of the blood fluids in connection with phagocytosis. Proc. Roy. Soc. Lond., 1904, vol. LXXIII, p. 128-142.

Wright. — A short treatise of antityphoid inoculation containing an exposition of the principles of the method and a summary of the results achieved by its application. Westminster, 1904.

— A lecture on therapeutic inoculations of bacterial vaccines and their practical exploitation in treatment of disease. Brit. med. Journ., 9 mai 1903.

— On the treatment of acne, furonculosis and sycosis by therapeutic inoculations of staphylococcus vaccine. Brit. med. Journ., 7 mai 1904.

Wright and Douglas. — On the Action exerted upon the tubercle bacillus by human blood fluids and on the elaboration of protective elements in the human organism in response to inoculations of tubercle vaccine. Proc. royal Soc., vol. LXXIV, p. 159-180, and Lancet, 22 oct. 1904.

Wright. — On the general principles of the therapeutic inoculation of bacterial vaccines as applied to the treatment of tuberculosis infection. Transactions of the R. M. C. Society, vol. LXXXIX, 1906.

Wrihgt. — The opsonic theory and therapeutic inoculation with bacterial vaccines. Canada Lancet, Toronto, 1906-1907, XL, 193-196.

Wright et Reid. — On spontaneous phagocytosis and on the phagocytosis which is obtained with the heated serum of patients who have responded to tubercular infection, or, as the case may be, to the inoculation of a tubercle vaccine. Pro. Roy. Soc. Lond, 1905-1906. S. B. LXXVII, 211. 225.

Wrigth and Reid. — On the determination of the presence or absence of tubercular infection by the examination of the patient's blood and tissue fluids. Proc. royal Society, 1906.

Wright. — 17 and 24 Aug. 1907. Lancet. Lecture on the principles of vaccinetherapy. Harvey Soc. of New-York.

Wolf. — Observations on the opsonic index and the antipneumococcal power of the blood in pneumonie. Journ. inf. diseases p. 733, 1906.

Wolker. — The relative influence of the blood fluids and the bacterial toxines in phagocytosis. Jour. of Med. Res., t. XIV, 1905. Nov.

York et Smith. — The effects of injection of antitoxic and antibacterial sera on the opsonic power of the blood. Bio. Chem. J. Liverpool, 1906, I. 341-346.

Imp. spéciale de la librairie Rousset, 12, rue Monsieur-le-Prince. Paris.

394

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE